



TUGAS AKHIR - RE141581

PEMANFAATAN ECENG GONDOK DAN JERAMI PADI SEBAGAI BAHAN BAKU BIOETANOL

**INIKE LAMRIA SIREGAR
NRP 3311 100 041**

**DOSEN PEMBIMBING
Dr. Ir. Ellina S. Pandebesie, M.T.**

**JURUSAN TEKNIK LINGKUNGAN
Fakultas Teknik Sipil dan Perencanaan
Institut Teknologi Sepuluh Nopember
Surabaya 2015**



FINAL PROJECT - RE141581

UTILIZATION OF WATER HYACINTH AND RICE STRAW AS RAW MATERIALS OF BIOETHANOL

**INIKE LAMRIA SIREGAR
NRP 3311 100 041**

**SUPERVISOR
Dr. Ir. Ellina S. Pandebesie, M.T.**

**DEPARTMENT OF ENVIRONMENTAL ENGINEERING
Faculty of Civil Engineering and Planning
Institute of Technology Sepuluh Nopember
Surabaya 2015**

LEMBAR PENGESAHAN

Pemanfaatan Eceng Gondok dan Jerami Padi sebagai Bahan Baku Bioetanol

TUGAS AKHIR

Diajukan Untuk Memenuhi Salah Satu Syarat Memperoleh Gelar
Sarjana Teknik
pada
Program Studi S-1 Jurusan Teknik Lingkungan
Fakultas Teknik Sipil dan Perencanaan
Institut Teknologi Sepuluh Nopember

Oleh:

INIKE LAMRIA SIREGAR
NRP. 3311100041

Disetujui oleh Pembimbing Tugas Akhir:



Dr. Ir. Ellina Sitepu Pandebesie, M.T.
NIP. 19560204 199203 2 001



Pemanfaatan Eceng Gondok dan Jerami Padi sebagai Bahan Baku Bioetanol

Nama : Inike Lamria Siregar
NRP : 3311100041
Jurusan : Teknik Lingkungan
Dosen Pembimbing : Dr. Ir. Ellina S. Pandebesie, M.T.

ABSTRAK

Eceng gondok dan jerami padi merupakan biomassa yang jumlahnya melimpah di alam dan dapat berdampak negatif bagi lingkungan. Eceng gondok dapat menurunkan kualitas perairan, sedangkan jerami padi sebagian besar menjadi limbah pertanian dan dibakar. Namun, eceng gondok dan jerami padi mengandung lignoselulosa yang dapat dimanfaatkan sebagai bahan baku bioetanol. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui potensi campuran eceng gondok dan jerami padi dalam pembuatan bioetanol, serta menentukan kadar bioetanol optimum yang dapat dihasilkan.

Proses pembuatan bioetanol terdiri atas beberapa tahap, yaitu *pretreatment*, hidrolisis dan fermentasi. Eceng gondok dan jerami padi dicampur dengan perbandingan 100:0, 75:25, 50:50, 25:75, dan 0:100 hingga berat total 100 g. Metode hidrolisis yang digunakan adalah hidrolisis enzimatis menggunakan jamur *Trichoderma viride* dan *Aspergillus niger*. Pada proses fermentasi digunakan ragi *Saccharomyces cerevisiae* dan dilakukan variasi penambahan sebanyak 50 mL dan 100 mL. Pengukuran sampel fermentasi dilakukan setelah 48, 72, dan 96 jam.

Pemanfaatan campuran eceng gondok dan jerami padi berpotensi rendah sebagai bahan baku bioetanol karena menghasilkan kandungan gula reduksi dan etanol yang tergolong rendah. Hasil etanol tertinggi terdapat pada campuran 75:25, yaitu sebesar 3,50 mg/g dengan penambahan 100 mL *S. cerevisiae* selama 96 jam fermentasi.

Kata kunci: bioetanol, eceng gondok, jerami padi.

Utilization of Water Hyacinth and Rice Straw as Raw Materials of Bioethanol

Name of Student : Inike Lamria Siregar
NRP : 3311100041
Study Programme : Environmental Engineering
Supervisor : Dr. Ir. Ellina S. Pandebesie, M.T.

ABSTRACT

Water hyacinth and rice straw are biomass which is numerous in nature and may cause negative impacts on the environment. Water hyacinth can degrade water quality, while most of the rice straw become agricultural waste and burned. However, water hyacinth and rice straw containing lignocellulose which can be used as raw material for bioethanol. The purpose of this study are to determine the potential mixture of water hyacinth and rice straw into bioethanol production, also determining the optimum concentration of ethanol production.

Bioethanol production process consists of several stages, which are pretreatment, hydrolysis and fermentation. At the pretreatment process, water hyacinth and rice straw combined with ratio 100:0, 75:25, 50:50, 25:75, and 0:100 with a total weight 100 g. Enzymatic hydrolysis uses *Trichoderma viride* and *Aspergillus niger*. In the fermentation process uses *Saccharomyces cerevisiae* with addition variations of 50 mL and 100 mL. Fermentation sample measurement is done after 48, 72, and 96 hours.

The utilization of a mixture of water hyacinth and rice straw have a low potential as raw material for bioethanol because it produces low reducing sugar and ethanol. The highest ethanol yields contained in the 75:25 mixture, which amounted to 3,50 mg/g with 100 mL addition of *S. cerevisiae* for 96 hours.

Keyword(s): bioethanol, rice straw, water hyacinth.

KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis panjatkan ke hadirat Tuhan Yang Maha Esa atas limpahan berkat dan rahmat-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan tugas akhir yang berjudul 'Pemanfaatan Eceng Gondok dan Jerami Padi sebagai Bahan Baku Bioetanol' tepat pada waktunya. Penyusunan tugas akhir ini merupakan tahap akhir untuk dapat menyelesaikan program studi sarjana jurusan Teknik Lingkungan.

Penyusunan laporan tugas akhir ini dapat diselesaikan juga atas bantuan moril, waktu, materi dari banyak pihak. Oleh karena itu, penulis ingin mengucapkan terima kasih kepada:

1. Dr. Ir. Ellina S. Pandebesie, M.T. selaku dosen pembimbing yang telah memberikan ilmu, arahan dan bimbingannya selama penyusunan laporan tugas akhir.
2. Prof. Dr. Yulinah Trihadiningrum, M.AppSc., Ibu IDAA Warmadewanthi, S.T., M.T., Ph.D., dan Bapak Welly Herumurti, S.T., M.Sc. selaku dosen penguji yang telah memberikan saran dan perbaikan dalam menyusun tugas akhir.
3. Orang tua, kakak, dan keluarga besar penulis yang selalu mendoakan dan memberikan dukungan kepada penulis.
4. Wilda Azmia Naufala sebagai rekan satu tim dalam mengerjakan tugas akhir ini.
5. Teman-teman mahasiswa Teknik Lingkungan ITS 2011 yang sudah memberikan bantuannya kepada penulis dalam menyelesaikan tugas akhir ini.
6. Keluarga Persekutuan Mahasiswa Kristen ITS atas doa dan dukungannya selama penulis mengerjakan tugas akhir.

Penulis menyadari bahwa tugas akhir ini masih jauh dari sempurna. Oleh karena itu, diharapkan kritik dan saran yang membangun dari semua pihak. Akhir kata, semoga tugas akhir ini dapat bermanfaat bagi kita semua.

Surabaya, Juni 2015
Penulis

DAFTAR ISI

ABSTRAK	i
ABSTRACT	iii
KATA PENGANTAR	v
DAFTAR ISI	vii
DAFTAR GAMBAR	ix
DAFTAR TABEL	xi
BAB 1 PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	2
1.3 Tujuan Penelitian	3
1.4 Ruang Lingkup Penelitian	3
1.5 Manfaat Penelitian	3
BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA	5
2.1 Karakteristik Eceng Gondok	5
2.2 Karakteristik Jerami Padi	6
2.3 Komponen Lignoselulosa	7
2.4 Karakteristik Bioetanol	8
2.5 Proses <i>Pretreatment</i>	10
2.6 Proses Hidrolisis	12
2.7 Proses Fermentasi	15
2.8 Gas Kromatografi	16
2.9 Penelitian Terdahulu	17
BAB 3 METODE PENELITIAN	21
3.1 Kerangka Penelitian	21
3.2 Tahapan Penelitian	23
BAB 4 HASIL DAN PEMBAHASAN	33
4.1 Potensi Eceng Gondok dan Jerami Padi sebagai Bahan Baku Bioetanol	33
4.1.1 Kadar Lignoselulosa Eceng Gondok dan Jerami Padi	33
4.1.2 Kadar Lignoselulosa hasil <i>Pretreatment</i>	34
4.1.3 Kadar Gula Reduksi hasil <i>Pretreatment</i>	35
4.1.4 Pengaruh Hidrolisis Eceng Gondok dan Jerami Padi menggunakan <i>T. viride</i> dan <i>A. niger</i>	36

4.2 Kadar Bioetanol setelah Fermentasi menggunakan <i>S. cerevisiae</i>	38
BAB 5 KESIMPULAN DAN SARAN	45
5.1 Kesimpulan	45
5.2 Saran	45
DAFTAR PUSTAKA.....	47
LAMPIRAN	53

DAFTAR TABEL

Tabel 2. 1	Komposisi Eceng Gondok dari beberapa Parameter ..	6
Tabel 2. 2	Karakteristik Jerami Padi Mentah.....	7
Tabel 2. 3	Hasil Penelitian Terdahulu menggunakan Eceng Gondok	18
Tabel 2. 4	Hasil Penelitian Terdahulu menggunakan Jerami Padi	18
Tabel 3. 1	Variabel Penelitian	27
Tabel 4. 1	Hasil Analisis Kandungan Awal Lignoselulosa pada Eceng Gondok dan Jerami Padi.....	33
Tabel 4. 2	Kandungan Hemiselulosa, Selulosa, dan Lignin setelah <i>Pretreatment</i>	34
Tabel 4. 3	Kandungan Gula Reduksi Eceng Gondok dan Jerami Padi setelah <i>Pretreatment</i>	35
Tabel 4. 4	Kadar Gula Reduksi Eceng Gondok dan Jerami Padi setelah Hidrolisis	36
Tabel 4. 5	Konsentrasi Etanol setelah Proses Fermentasi	39

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2. 1 Eceng Gondok yang tumbuh di atas permukaan air	5
Gambar 2. 2 Jerami Padi.....	6
Gambar 2. 3 Proses <i>Pretreatment</i> pada Lapisan Lignoselulosa.	10
 Gambar 3. 1 Kerangka Penelitian	23
Gambar 3. 2 Gambaran Kerja Pembuatan Inokulum <i>T. viride</i> dan <i>A. niger</i>	26
Gambar 3. 3 Gambaran Kerja Pembuatan Inokulum <i>S. cerevisiae</i>	26
Gambar 3. 4 Gambaran Kerja pada Proses <i>Pretreatment</i>	28
Gambar 3. 5 Gambaran Kerja pada Proses Hidrolisis	29
Gambar 3. 6 Gambaran Kerja pada Proses Fermentasi.....	30
 Gambar 4. 1 Grafik Peningkatan Gula Reduksi Eceng Gondok dan Jerami Padi.....	37
Gambar 4. 2 Kromatogram sampel A1.....	38
Gambar 4. 3 Konsentrasi Etanol dengan Penambahan 50 mL <i>S. cerevisiae</i>	40
Gambar 4. 4 Konsentrasi Etanol dengan Penambahan 100 mL <i>S. cerevisiae</i>	40
Gambar 4. 5 Penurunan Kadar Gula Reduksi setelah Proses Fermentasi dengan Penambahan 50 mL <i>S. cerevisiae</i>	43
Gambar 4. 6 Penurunan Kadar Gula Reduksi setelah Proses Fermentasi dengan Penambahan 100 mL <i>S. cerevisiae</i>	44

BAB1

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Eceng gondok (*Eichhornia crassipes*) merupakan salah satu tumbuhan air yang mengapung di permukaan air. Eceng gondok memiliki kemampuan untuk beradaptasi dari perubahan ekstrim laju air, perubahan kadar nutrisi, pH, temperatur, ketinggian air dan racun yang terdapat dalam air. Eceng gondok memiliki kecepatan tumbuh dan penyebaran yang sangat pesat, sehingga sering terjadi peningkatan jumlah pertumbuhan eceng gondok di perairan. Keberadaan eceng gondok yang melimpah di perairan dapat menyebabkan dampak negatif, antara lain penurunan kualitas air permukaan, menghambat aliran air, dan menurunkan jumlah ketersediaan air (Amaral, 2012).

Selain eceng gondok, jerami padi juga memiliki jumlah yang melimpah dan menjadi salah satu permasalahan lingkungan secara global. Sekitar 650-975 juta ton jerami padi dihasilkan setiap tahun. Sebagian besar dari jerami padi tersebut akan digunakan sebagai pakan ternak dan sisanya sebagai limbah pertanian. Saat ini, pembakaran jerami padi adalah metode utama untuk menghilangkan limbah jerami padi, tetapi hal ini dapat meningkatkan polusi udara dan akibatnya mempengaruhi kesehatan masyarakat sekitar pertanian (Binod *et al.*, 2010). Oleh karena itu, perlu dilakukan pemanfaatan eceng gondok dan jerami padi dalam jumlah besar untuk mengurangi keberadaannya di lingkungan.

Salah satu metode yang dapat dilakukan adalah memanfaatkan eceng gondok dan jerami padi sebagai bahan baku bioetanol. Bioetanol telah lama dianggap sebagai alternatif yang cocok untuk bahan bakar fosil, baik sebagai bahan bakar tunggal di mobil dengan mesin khusus atau sebagai aditif dalam campuran bahan bakar tanpa modifikasi mesin khusus bila dicampur hingga 30%. Bioetanol sebagai biofuel memiliki karakteristik antara lain mampu menurunkan tingkat emisi partikulat yang membahayakan kesehatan (CO dan CO₂),

memiliki angka oktan yang tinggi, tidak mengandung senyawa timbal, serta mirip dengan bensin sehingga penggunaannya tidak memerlukan modifikasi mesin (Nurfiana *et al.*, 2009). Pada pembuatan bioetanol, salah satu bahan yang dapat digunakan adalah bahan-bahan berselulosa karena selulosa bila dihidrolisis akan menghasilkan gula dan difermentasi menghasilkan bioetanol. Contoh bahan yang mengandung selulosa adalah eceng gondok dan jerami padi (Ganguly *et al.*, 2012).

Ariyani *et al.* (2013) menyatakan bahwa proses pembuatan bioetanol terdapat beberapa tahap, yaitu perlakuan awal (*pretreatment*), hidrolisis, dan fermentasi. *Pretreatment* bertujuan untuk memecah lignoselulosa dan merusak struktur kristal selulosa sehingga meningkatkan produksi glukosa. Pada penelitian ini, *pretreatment* dilakukan dengan penambahan asam dan pemanasan. Kemudian selulosa diubah menjadi glukosa pada tahap hidrolisis dengan bantuan mikroorganisme. Kodri *et al.* (2013) menggunakan mikroorganisme dari genus *Aspergillus* dan *Trichoderma* untuk mensakarifikasi gula reduksi. Pada tahap fermentasi, glukosa diubah menjadi etanol dengan bantuan mikroorganisme *S. cerevisiae*.

Penelitian yang dilakukan Merina dan Trihadiningrum (2011) menghasilkan kadar etanol tertinggi dari eceng gondok sebesar 0,27%, sedangkan pada penelitian Novia *et al.* (2012) kadar etanol tertinggi yang dihasilkan dari jerami padi adalah sebesar 14,6%. Berdasarkan hasil penelitian tersebut, pencampuran bahan baku dilakukan untuk meningkatkan efisiensi eceng gondok dalam menghasilkan etanol. Asumsi kadar etanol yang dapat dihasilkan adalah sebesar $\pm 7\%$.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang di atas, rumusan masalah yang akan dibahas pada penelitian ini adalah :

1. Bagaimana potensi pemanfaatan campuran eceng gondok dan jerami padi dalam pembuatan bioetanol?
2. Perbandingan manakah dari variasi bahan baku dan dosis mikroorganisme yang paling optimum untuk menghasilkan bioetanol selama proses fermentasi?

1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah:

1. Mengkaji potensi pemanfaatan campuran eceng gondok dan jerami padi dalam pembuatan bioetanol.
2. Menganalisis perbandingan variasi bahan baku dan dosis mikroorganisme yang paling optimum untuk menghasilkan bioetanol pada proses fermentasi.

1.4 Ruang Lingkup Penelitian

Ruang lingkup bertujuan untuk membatasi masalah yang akan dibahas pada penelitian. Tugas akhir ini memiliki ruang lingkup penelitian sebagai berikut :

1. Eceng Gondok yang dipakai pada penelitian ini adalah eceng gondok yang berada di kawasan ITS.
2. Jerami yang digunakan pada penelitian ini adalah jerami yang di ambil di daerah rungkut, Surabaya.
3. Penelitian dilakukan di Laboratorium Limbah Padat dan B3 Jurusan Teknik Lingkungan ITS.
4. Penelitian dilakukan dalam skala laboratorium.
5. Mikroorganisme yang digunakan adalah *Trichoderma viride*, *Aspergillus niger*, dan *Saccharomyces cerevisiae*.

1.5 Manfaat Penelitian

Manfaat yang diperoleh dengan adanya penelitian ini adalah diperolehnya informasi pemanfaatan eceng gondok dan jerami padi sebagai bahan baku pembuatan energi alternatif bioetanol, sehingga dapat dilakukan minimisasi limbah pertanian dan jumlah eceng gondok yang melimpah di alam.

“Halaman ini sengaja dikosongkan.”

BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Karakteristik Eceng Gondok

Eceng gondok (*Eichhornia crassipes*) merupakan gulma air yang pertumbuhannya sangat cepat sehingga dapat menutupi permukaan air. Gambar 2.1 menunjukkan keberadaan eceng gondok di atas permukaan air. Eceng gondok dapat beradaptasi dengan perubahan kondisi air yang ekstrim, seperti ketinggian air, arus air, ketersediaan nutrisi, perubahan pH, temperatur, dan racun-racun dalam air. Selain itu, eceng gondok juga menguras nutrisi dan oksigen dengan cepat dari badan air, sehingga dapat mempengaruhi ekosistem. Pertumbuhan eceng gondok yang sangat cepat dapat menghasilkan hampir 2 ton biomassa per hektar (Singh dan Bishnoi, 2013). Klasifikasi tanaman eceng gondok adalah sebagai berikut.

Kingdom : Plantae
Divisi : Magnoliophyta
Kelas : Liliopsida
Ordo : Commelinales
Familia : Pontederiaceae
Genus : *Eichhornia*
Spesies : *Eichhornia crassipes*



Gambar 2. 1 Eceng Gondok yang tumbuh di atas permukaan air
kawasan Kampus ITS

Eceng gondok merupakan salah satu biomassa berlignoselulosa yang dapat dimanfaatkan sebagai bahan baku bioetanol. Kandungan hemiselulosa, selulosa, dan lignin pada eceng gondok berdasarkan beberapa peneliti dapat dilihat pada Tabel 2.1.

Tabel 2. 1 Kandungan Lignoselulosa pada Eceng Gondok berdasarkan Penelitian terdahulu

Referensi	Komponen lignoselulosa (%)		
	Hemiselulosa	Selulosa	Lignin
Nigam (2002)	48.70%	18.20%	3.50%
Ma <i>et al.</i> (2010)	29,3 ± 0,5	18,2 ± 0,6	2,8 ± 0,2
Issani <i>et al.</i> (2014)	33,51	19,40	6,87

2.2 Karakteristik Jerami Padi

Jerami padi merupakan salah satu limbah pertanian yang jumlahnya cukup besar dan belum dimanfaatkan secara optimal. Jerami padi merupakan bagian dari batang padi tanpa akar yang tertinggal setelah diambil butir buahnya. Gambar 2.2 menunjukkan bentuk dari jerami padi.



Gambar 2. 2 Jerami Padi

Peningkatan produksi padi juga diiringi dengan peningkatan limbah jerami padi. Rasio panen padi adalah 1,4 (berdasarkan pada berat kering massa), artinya setiap produksi 1 ton akan menghasilkan jerami 1,4 ton. Misal produksi rata-rata

beras di Jawa Barat adalah 6 ton, maka jerami yang dihasilkan kurang lebih sebanyak 8,4 ton berat kering (Jannah, 2010).

Binod *et al.* (2010) menyatakan bahwa jerami padi mengandung selulosa yang tinggi, sehingga jerami padi dapat digunakan sebagai salah satu bahan baku potensial untuk pembuatan bioetanol. Kandungan hemiselulosa, selulosa, dan lignin pada jerami padi berdasarkan hasil penelitian terdahulu dapat dilihat pada Tabel 2.2.

Tabel 2. 2 Kandungan Lignoselulosa pada Jerami padi berdasarkan Penelitian terdahulu

Referensi	Komponen lignoselulosa (%)		
	Hemiselulosa	Selulosa	Lignin
Abedinifar (2009)	24 ± 0,8	38 ± 0,7	8 ± 0,4
Binod <i>et al.</i> (2010)	19-27	32-47	5-24
Das <i>et al.</i> (2013)	31,7	41,2	21,8

2.3 Komponen Lignoselulosa

Lignoselulosa merupakan bahan baku sumber serat yang terdiri dari selulosa, hemiselulosa, dan lignin. Selulosa dan hemiselulosa merupakan bahan pendukung dinding sel. Rasio dari tiga komponen utama ini bervariasi berdasarkan spesies tanaman yang berbeda.

- **Selulosa**

Selulosa merupakan komponen yang sudah banyak dimanfaatkan untuk berbagai jenis industri seperti industri kertas, tekstil, membran, film, dan lain-lain. Selulosa juga diperlukan dalam bahan bakar fosil karena campurannya dapat mengeluarkan emisi CO₂ yang rendah (Huber *et al.*, 2003).

Selulosa (C₆H₁₀O₅)_x merupakan penyusun utama dinding sel. Selulosa adalah polisakarida yang terdiri dari rantai linear D-glukosa yang dihubungkan oleh β-(1,4)-glukosida dan terikat satu sama lain (Alrikson, 2006). Ikatan β-(1,4)-glukosida dapat dipecah menjadi monomer glukosa dengan cara hidrolisis. Selulosa mempunyai struktur molekul yang kuat dan berat molekul yang tinggi. Molekul selulosa terkait bersama-sama dan

membentuk fibril selulosa dan serat selulosa dihubungkan oleh sejumlah ikatan hidrogen antar molekul. Oleh karena itu, selulosa memiliki tingkat kelarutan yang rendah dalam air dan juga sebagian besar pelarut organik (Mood *et al.*, 2013).

- **Hemiselulosa**

Hemiselulosa ($(C_5H_8O_4)_m$), yang terletak di dinding sel sekunder, adalah biopolimer bercabang heterogen yang mengandung pentosa (xilosa dan arabinosa), heksosa (manosa, glukosa, galaktosa) dan asam (α -D-glukuronat, α -D-4-O-metil-galacturonic dan asam α -D-galacturonic). Kandungan tersebut relatif mudah untuk dihidrolisis karena bentuknya memiliki cabang yang berstruktur (dengan rantai lateral yang pendek), serta berat molekulnya rendah. Hemiselulosa dalam jumlah besar harus dibuang untuk meningkatkan daya cerna selulosa karena hemiselulosa dapat menutupi fibril selulosa dan membatasi ketersediaannya untuk hidrolisis enzimatis. Hemiselulosa relatif sensitif terhadap kondisi operasi, oleh karena itu, parameter seperti suhu dan retensi waktu harus dikontrol untuk menghindari pembentukan produk yang tidak diinginkan dan kemudian menghambat proses fermentasi (Mood *et al.*, 2013).

- **Lignin**

Lignin merupakan polimer kompleks yang terdiri dari unit fenilpropana dan dihubungkan oleh eter atau ikatan-ikatan karbon. Lignin merupakan polimer karbohidrat yang harus didegradasi dahulu. Degradasi lignin dilakukan untuk melepaskan selulosa dari ikatan lignin-hemiselulosa dan mengurangi kristalinitas selulosa (Balan *et al.*, 2009).

2.4 Karakteristik Bioetanol

Bioetanol (C_2H_5OH) adalah cairan biokimia dari proses fermentasi gula dari sumber karbohidrat menggunakan bantuan mikroorganisme. Etanol atau *Etil Alcohol* (lebih dikenal dengan alkohol, dengan rumus kimia C_2H_5OH) adalah cairan tak berwarna dengan karakteristik antara lain mudah menguap,

mudah terbakar, larut dalam air, tidak karsinogenik, dan jika terjadi pencemaran tidak memberikan dampak lingkungan yang signifikan (Jannah, 2010).

Amaral (2012) menyebutkan karakteristik bioetanol sebagai biofuel adalah sebagai berikut:

- Memiliki angka oktan yang tinggi
- Mampu menurunkan tingkat emisi partikulat yang membahayakan kesehatan, serta CO dan CO₂.
- Mirip dengan bensin sehingga penggunaannya tidak memerlukan modifikasi mesin
- Tidak mengandung senyawa timbal.

Di Indonesia, pengembangan bioetanol ini sudah sesuai dengan Peraturan Presiden Nomor 5 Tahun 2006 tentang kebijakan energi nasional yang menetapkan 5 % konsumsi berasal dari bahan bakar nabati (Effendi, 2010). Bioetanol yang merupakan salah satu bahan bakar nabati dimanfaatkan untuk mengurangi konsumsi premium atau bensin. E5 merupakan campuran 5% bioetanol dengan 95% premium yang telah dipasarkan Pertamina dengan nama dagang biopremium (Sugiyono, 2008).

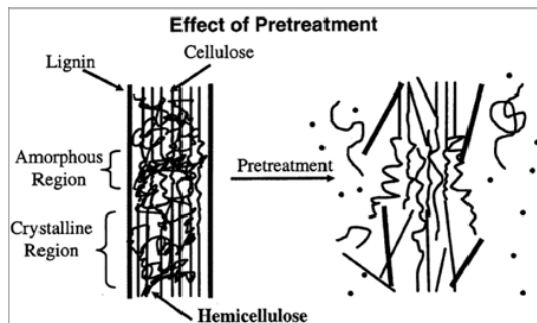
Alrikson (2006) menyatakan bahwa bahan baku utama yang dapat digunakan untuk produksi etanol secara fermentasi adalah yang mengandung zat gula, pati, dan lignoselulosa. Kelemahan penggunaan bahan baku yang mengandung zat gula dan pati adalah bersaing dengan ketersediaan pangan bagi manusia dan memerlukan biaya yang cukup besar untuk substratnya maupun dalam proses pengolahannya. Bahan baku yang mengandung lignoselulosa seperti eceng gondok dan jerami padi memerlukan biaya yang relatif murah. Selain itu, ketersediaan bahan baku lignoselulosa di alam melimpah, bahkan menjadi limbah, sehingga perlu dimanfaatkan.

Pada proses pembuatan etanol terdapat beberapa tahap, yaitu *pretreatment*, hidrolisis biomassa untuk mengkonversi dinding sel menjadi gula sederhana, dan fermentasi anaerobik untuk mengkonversi gula menjadi etanol.

2.5 Proses *Pretreatment*

Tahap awal dari pembuatan bioetanol adalah proses *pretreatment*. *Pretreatment* bertujuan untuk mengurangi kristalinitas selulosa, meningkatkan luas permukaan biomassa, dan memecah lapisan lignin. *Pretreatment* membuat selulosa lebih mudah diakses oleh enzim sehingga konversi polimer karbohidrat menjadi gula difermentasi dapat dicapai lebih cepat dan dengan hasil yang lebih banyak (Jannah, 2010).

Selulosa dan hemiselulosa yang padat dibungkus oleh lapisan lignin yang berfungsi untuk melindungi selulosa dan hemiselulosa terhadap hidrolisis enzimatik. Oleh karena itu, perlu dilakukan proses *pretreatment* untuk memecahkan lignin sehingga selulosa dan hemiselulosa dapat diakses pada proses hidrolisis (Mosier *et al.*, 2005). Hasil dari proses *pretreatment* dapat dilihat pada Gambar 2.3.



Gambar 2. 3 Proses *Pretreatment* pada Lapisan Lignoselulosa (Mosier *et al.*, 2005)

Tahap *pretreatment* dapat dilakukan dengan beberapa metode, yaitu secara fisika, fisik-kimia, kimia, dan biologis (Talebnia *et al.*, 2010).

1. *Pretreatment* secara Fisika

Langkah pertama dalam menggunakan biomassa untuk produksi etanol adalah pengurangan ukuran dengan

penggilingan atau pencacahan. Mengecilkan ukuran partikel ini dapat meningkatkan efisiensi pengolahan akhir. Namun, penggunaan partikel yang sangat kecil mungkin tidak diinginkan karena akan mengakibatkan konsumsi energi yang lebih tinggi di tahap penggilingan serta menimbulkan efek negatif terhadap metode *pretreatment* berikutnya.

2. *Pretreatment* Kimia

Pada *pretreatment* kimia digunakan berbagai bahan kimia yang berbeda seperti asam, alkali, dan oksidator misalnya peroksida dan ozon. Tergantung pada jenis bahan kimia yang digunakan, *pretreatment* bisa memiliki efek yang berbeda pada komponen struktural lignoselulosa. Dubey *et al.* (2012) menyatakan bahwa dari berbagai metode *pretreatment*, metode *pretreatment* dengan asam sulfat encer paling banyak digunakan dan telah lama diakui sebagai langkah penting untuk menghilangkan fraksi hemiselulosa dari substrat lignoselulosa sehingga menghemat konversi biologis biomassa selulosa menjadi etanol.

3. *Pretreatment* Fisik-Kimia

Pelarutan komponen lignoselulosa tergantung pada suhu, pH dan kadar air. Suhu yang tinggi diperlukan saat proses *pretreatment* dengan asam encer (konsentrasi rendah), sedangkan dengan asam pekat (konsentrasi tinggi) diperlukan suhu yang rendah. Hal ini juga dapat dipengaruhi waktu pemanasan. Semakin lama pemanasan, semakin besar konversi yang dihasilkan, tetapi jika suhu terlalu tinggi, konversi yang diperoleh akan menurun. Oleh karena itu, faktor-faktor dalam *pretreatment* perlu diperhatikan selama proses berlangsung (Mood *et al.*, 2013; Osvaldo *et al.*, 2012).

4. *Pretreatment* Biologis

Pretreatment biologi menggunakan mikroorganisme seperti jamur untuk mendegradasi lignin dan hemiselulosa. Jamur pelapuk putih (*white-rot* fungi) merupakan salah satu mikroorganisme yang paling

efektif dalam mendegradasi lignin dan hemiselulosa. Degradasi lignin terjadi melalui aksi pendegradasi enzim lignin seperti peroksidase dan lakase. Jamur yang cocok untuk *pretreatment* biologi harus memiliki afinitas yang lebih tinggi untuk lignin dan dapat menurunkannya lebih cepat dari karbohidrat. *Pretreatment* biologis aman, ramah lingkungan dan hemat energi dibandingkan dengan metode *pretreatment* lainnya. Namun, metode ini memiliki laju reaksi hidrolisis yang sangat rendah dan membutuhkan banyak perbaikan untuk penggunaan komersial.

2.6 Proses Hidrolisis

Hidrolisis merupakan proses pemecahan polisakarida di dalam biomassa lignoselulosa, yaitu selulosa dan hemiselulosa menjadi monomer gula penyusunnya. Pada hidrolisis sempurna, selulosa akan menghasilkan glukosa, sedangkan hemiselulosa menghasilkan beberapa monomer gula pentose (C_5) dan heksosa (C_6). Hidrolisis dapat dilakukan secara kimiawi atau enzimatik (Novia *et al.*, 2011).

Hidrolisis secara kimiawi menggunakan asam. Beberapa asam yang umum digunakan antara lain adalah asam sulfat, asam perklorat dan HCl. Hidrolisis asam telah banyak dilakukan, tetapi memiliki beberapa kelemahan, antara lain hasil etanol yang rendah, membutuhkan energi yang besar, dan terjadi masalah korosi panjang jika hidrolisis asam dilakukan dengan pengenceran asam pada 180°C (Rajoka, 2005).

Hidrolisis enzimatik menggunakan enzim murni atau mikroorganisme penghasil enzim selulase. Kendala yang dihadapi yaitu rendahnya laju hidrolisis karena adanya kandungan lignin dalam bahan lignoselulosa. Oleh karena itu, perlu dilakukan proses delignifikasi atau degradasi lignin sebelum dihidrolisis. Kelebihan hidrolisis enzimatik dibandingkan dengan hidrolisis asam antara lain, tidak terjadi degradasi gula hasil hidrolisis, kondisi proses yang lebih rendah (suhu rendah), berpotensi memberikan hasil yang tinggi, biaya pemeliharaan peralatan relatif rendah karena tidak ada bahan yang korosif,

serta proses enzimatis merupakan proses yang ramah lingkungan (Rajoka, 2005; Gunam, 2011).

Penelitian hidrolisis selulosa secara enzimatis telah banyak dilakukan menggunakan enzim yang dihasilkan dari satu jenis jamur, namun konsentrasi glukosa yang dihasilkan masih belum cukup tinggi. Penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa hidrolisis enzimatis menggunakan kombinasi dari dua jenis jamur lebih efisien menghidrolisis selulosa dibandingkan hidrolisis menggunakan satu jenis jamur saja (Safaria *et al.*, 2013).

Enzim selulase diperoleh dari campuran enzim endoglukanase, eksoglukanase dan β -glukosidase. Selulase dapat diproduksi oleh jamur, bakteri, tumbuhan, dan ruminansia. Salah satu mikroorganisme utama yang dapat memproduksi selulase adalah jamur. Jamur berfilamen seperti *Trichoderma* dan *Aspergillus* adalah penghasil enzim selulase dan *crude enzyme* secara komersial (Ul-Haq *et al.*, 2005).

T. viride merupakan salah satu penghasil enzim selulase yang paling terkenal dan biasanya mengeluarkan jumlah selulase yang tinggi, tetapi umumnya menghasilkan β -glukosidase yang sangat rendah, sehingga produk utama hidrolisisnya bukan glukosa melainkan selobiosa, yang merupakan inhibitor kuat terhadap endoglukanase dan eksoglukanase (Wang *et al.*, 2009). Berbeda dengan *A. niger* yang menghasilkan β -glukosidase tinggi, namun menghasilkan endo- β -1,4-glukanase dan ekso- β -1,4 glukanase yang rendah (Juhasz *et al.*, 2003). Oleh karena itu, perlu adanya penambahan β -glukosidase dari luar untuk mempercepat konversi selobiosa menjadi glukosa dengan cara mengkombinasikan enzim selulase dari *T. viride* dan *A. niger*.

- ***Trichoderma viride***

T.viride adalah jenis kapang yang dapat tumbuh cepat di berbagai substrat, serta mampu berkembang biak pada kondisi pH asam (Sulistyaningtyas *et al.*, 2013). Klasifikasi jamur *T. viride* adalah sebagai berikut.

Kingdom	: Fungi
Divisi	: Ascomycota
Kelas	: Deuteromycetes

Ordo : Hypocreales
Famili : Hypocreaceae
Genus : *Trichoderma*
Spesies : *Trichoderma viride*

Trichoderma viride merupakan kapang berfilamen yang sangat dikenal sebagai organisme selulolitik dan menghasilkan enzim-enzim selulolitik, termasuk enzim selobiohidrolase, endoglukanase dan β -glukosidase. Kelebihan dari *Trichoderma viride* selain menghasilkan enzim selulolitik yang lengkap, juga menghasilkan enzim xyloglukanolitik (Tribak *et al.*, 2002). Keberadaan enzim ini akan semakin mempermudah enzim selulolitik dalam memecah selulosa dan menghasilkan gula-gula sederhana.

- ***Aspergillus niger***

Aspergillus niger merupakan jenis jamur yang dapat tumbuh cepat dengan menggunakan nutrisi yang ada di sekelilingnya. Jamur ini juga dapat tumbuh baik pada suhu kamar dan pada medium pH asam. Klasifikasi *A. niger* adalah sebagai berikut.

Kingdom : Fungi
Filum : Ascomycota
Klas : Ascomycetes
Ordo : Eurotiales
Famili : Trichocomaceae
Genus : *Aspergillus*
Spesies : *Aspergillus niger*

A. niger telah dikenal sebagai salah satu jenis kapang yang memiliki kemampuan yang tinggi untuk penerapannya dalam industri pangan, pakan, kertas, minuman dan biofuel. Dalam lingkungan, *A. niger* ditemukan di tanah di mana ia dapat mendegradasi bahan tanaman dengan mengeluarkan berbagai enzim lignoselulosa. Selain itu *aspergillus niger* memiliki kelebihan dibandingkan jenis kapang lainnya yaitu mampu

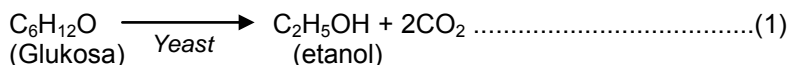
menghasilkan enzim selulase khususnya β -glukosidase dalam jumlah tinggi (Yusak, 2004).

2.7 Proses Fermentasi

Pada tahap fermentasi, gula yang dihasilkan pada proses hidrolisis dikonversi menjadi etanol dan gas karbon dioksida. Selama fermentasi berlangsung, gula dalam bentuk glukosa dirombak menjadi etanol dan produk fermentasi lainnya (Arnata, 2009). Proses fermentasi ini dilakukan oleh aktivitas mikroorganisme.

Mikroorganisme yang ideal untuk fermentasi harus memiliki permukaan substrat yang besar, dapat menghasilkan etanol yang tinggi, memiliki toleransi terhadap inhibitor, serta dapat melakukan aktivitas selulolitik dan kemampuan untuk fermentasi gula pada suhu tinggi. Zhao dan Bai (2009) menyatakan bahwa *S. cerevisiae* memiliki kemampuan tersebut dan juga telah dipelajari secara ekstensif dalam beberapa tahun terakhir untuk produksi bahan bakar bioetanol.

Fermentasi oleh *S. cerevisiae* dapat menghasilkan etil alkohol (etanol) dan CO_2 melalui reaksi sebagai berikut (Endah *et al.*, 2007).



Besarnya konsentrasi etanol dipengaruhi oleh faktor suhu, waktu, pH, dosis dan kinerja mikroorganisme, serta konsentrasi gula saat proses fermentasi (Lin *et al.*, 2012). Laju awal produksi etanol dengan menggunakan *S. cerevisiae* akan meningkat pada suhu yang lebih tinggi, namun produktifitas keseluruhan menurun karena adanya pengaruh peningkatan etanol yang dihasilkan.

- ***Saccharomyces cerevisiae***

Saccharomyces cerevisiae adalah spesies mikroorganisme ragi yang biasa digunakan dalam proses fermentasi. *S. cerevisiae* merupakan salah satu ragi yang

terkenal di dunia dalam pembuatan bir sejak berabad-abad. Klasifikasi *S. cerevisiae* adalah sebagai berikut.

Kingdom : Fungi
Divisio : Ascomycota
Kelas : Saccharomycetes
Ordo : Saccharomycetales
Famili : Saccharomycetaceae
Genus : *Saccharomyces*
Spesies : *Saccharomyces cerevisiae*

S. cerevisiae sering digunakan dalam fermentasi etanol karena tingkat ketahanan dan toleran terhadap kadar etanol yang tinggi (12-18% v/v), tahan pada kadar gula yang cukup tinggi dan tetap aktif melakukan fermentasi pada suhu 4-32 °C. *S. cerevisiae* mempunyai aktivitas optimum pada suhu 30-35 °C dan tidak aktif pada suhu lebih dari 40 °C. *S. cerevisiae* dapat melakukan fermentasi glukosa, sukrosa, galaktosa serta rafinosa (Arnata, 2009).

Bayrakli dan Kocar (2014) menyatakan bahwa selain glukosa, *S. cerevisiae* juga dapat menghasilkan konsentrasi etanol dari heksosa dan memiliki toleransi yang tinggi terhadap senyawa penghambat atau inhibitor lainnya. Secara alami, *S. cerevisiae* mampu memetabolisme gula pentosa seperti xilosa dan arabinosa.

2.8 Gas Kromatografi

Kadar etanol dalam suatu substrat dapat diukur dengan metode gas kromatografi. Jannah (2010) menyatakan bahwa gas kromatografi adalah suatu proses dimana suatu campuran menjadi komponen-komponennya oleh fase gas yang bergerak melewati suatu lapisan serapan (*sorben*) yang stasioner. Di dalam kromatografi diperlukan adanya dua fase yang tidak saling bercampur, yaitu fase diam dan fase bergerak. Fase diam dapat berupa suatu zat padat yang ditempatkan di dalam suatu kolom atau dapat juga berupa cairan terserap (teradsorpsi) berupa lapisan yang tipis pada butir-butir halus suatu zat padat

pendukung yang ditempatkan di dalam kolom. Fase geraknya dapat berupa gas (gas pembawa) atau cairan.

Campuran yang akan dipisahkan komponen-komponennya, dimasukkan ke dalam kolom yang mengandung fase diam. Dengan bantuan fase gerak, komponen-komponen campuran itu kemudian dibawa bergerak melalui fase diam didalam kolom. Perbedaan ataraksi dan afinitas antara komponen-komponen itu bergerak dengan kecepatan berbeda melalui kolom. Akibat adanya perbedaan kecepatan, komponen-komponen itu terpisah satu sama lain.

Gas kromatografi terdiri dari :

1. Tangki gas pembawa. Gas yang bertindak sebagai fase gerak disebut juga gas pembawa atau carier gas. Gas pembawa yang biasa digunakan seperti helium (He), dan nitrogen (N).
2. Alat pengatur tekanan (*regulator*), *regulator* digunakan untuk mengatur tekanan gas-gas yang digunakan.
3. *Injection Port* adalah cabang untuk memasukkan cuplikan dengan cara penyuntikan.
4. Kolom, tempat terjadinya proses pemisahan komponen-komponen cuplikan. Kolom ini ditempatkan di dalam oven bersuhu tinggi, sehingga komponen- komponen cuplikan tetap berupa uap.
5. *Detector*. Untuk mendeteksi komponen-komponen yang keluar dari kolom. *Detector* ini akan mengirimkan isyarat listrik ke alat pencatat (*recorder*).
6. *Recorder* (alat pencatat yang berfungsi untuk mencatat isyarat-isyarat). *Recorder* yang banyak digunakan pada saat ini disebut integrator yang mempunyai fasilitas yang lebih lengkap daripada recorder biasa.

2.9 Penelitian Terdahulu

Beberapa penelitian pembuatan bioetanol telah dilakukan dengan menggunakan eceng gondok dan jerami padi. Tabel 2.3 menyajikan hasil penelitian dengan eceng gondok dan Tabel 2.4 menyajikan hasil penelitian dengan jerami padi.

Tabel 2. 3 Hasil Penelitian Terdahulu menggunakan Eceng Gondok

No	Sumber	Hasil Penelitian
1	Aswathy <i>et al.</i> (2010)	Uji coba mentah pada fermentasi hidrolisat enzimatis menggunakan <i>Saccharomyces cerevisiae</i> menghasilkan konsentrasi etanol sebesar 4,4 g/L.
2	Ma <i>et al.</i> (2010)	<i>Pretreatment</i> yang dikombinasikan dengan <i>E. Taxodii</i> (10 hari) dan 0,25% H ₂ SO ₄ terbukti lebih efektif daripada <i>pretreatment</i> dengan asam tunggal. Hidrolisis dan fermentasi pada penelitian ini terpisah dengan <i>Saccharomyces cerevisiae</i> menunjukkan bahwa hasil etanol dari eceng gondok mencapai 0,192 g/g keadaan kering.
3	Merina dan Trihadiningrum (2011)	Kadar glukosa tertinggi pada penelitian ini sebesar 8414,73 mg/L yang dihasilkan dari proses <i>pretreatment</i> dengan asam sulfat 2% (v/v) kemudian dilikuifikasi dengan <i>A. niger</i> 8/40 (v/v) dan tanpa sakarifikasi dengan <i>S. cerevisiae</i> . Kadar etanol tertinggi sebesar 0,27%. Hasil ini diperoleh dari proses <i>pretreatment</i> dengan pemanasan, kemudian dilakukan likuifikasi dengan <i>A. niger</i> 4/40 (v/v) tanpa dilakukan sakarifikasi dan difermentasi dengan <i>S.cerevisiae</i> selama tiga hari.
4	Issani <i>et al.</i> (2014)	Hasil penelitian ini menunjukkan adanya produksi bioetanol dari eceng gondok. Kadar bioetanol optimum yang dihasilkan yaitu sebesar 2,37 mg/g dengan konsentrasi inokulum <i>S. cerevisiae</i> terbaik yaitu 10 % (v/v) pada waktu SSF 72 jam menggunakan substrat eceng gondok 10 gram.

Tabel 2. 4 Hasil Penelitian Terdahulu menggunakan Jerami Padi

No	Sumber	Hasil Penelitian
1	Abedinifar (2009)	Jerami padi dapat menghasilkan etanol dengan metode terpisah antara hidrolisis enzimatis dan fermentasi menggunakan <i>Mucor indicus</i> , <i>Rhizopus oryzae</i> , dan <i>S. cerevisiae</i> . Substrat

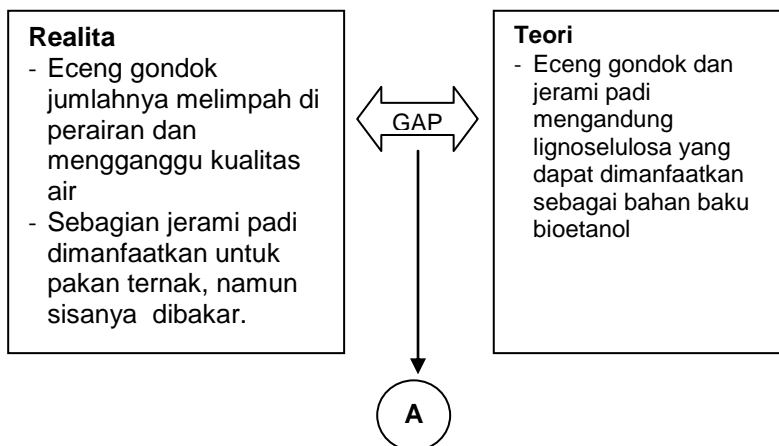
No	Sumber	Hasil Penelitian
		dengan konsentrasi 100g/L dengan <i>pretreatment</i> asam menghasilkan gula reduksi 0,599 g/g setelah proses hidrolisis. Kemudian, kadar etanol hasil fermentasi substrat tersebut dengan <i>S. cerevisiae</i> sebesar 0,37 g/g.
2	Novia <i>et al.</i> (2012)	Pada penelitian ini, produksi etanol dari biomassa lignoselulosa jerami padi terdiri dari tahap <i>pretreatment alkaline</i> dilanjutkan dengan metode SSF (Simultan Sakarifikasi Fermentasi) dan tahap purifikasi etanol. Sakarifikasi menggunakan metode enzimatis dengan bantuan enzim selulase yang berasal dari fungi <i>A. niger</i> . Variabel yang digunakan adalah waktu tinggal dan konsentrasi NaOH pada saat <i>pretreatment</i> . Waktu tinggal yang digunakan mulai dari 30, 45, 60, 75, sampai dengan 90 menit. Sedangkan konsentrasi NaOH yang digunakan adalah 0%; 0,5%; 1%; 1,5%; dan 2%. Dari hasil penelitian yang dilakukan didapat kadar etanol yang tertinggi 14,6% dengan waktu tinggal 90 menit dan konsentrasi NaOH 2%.

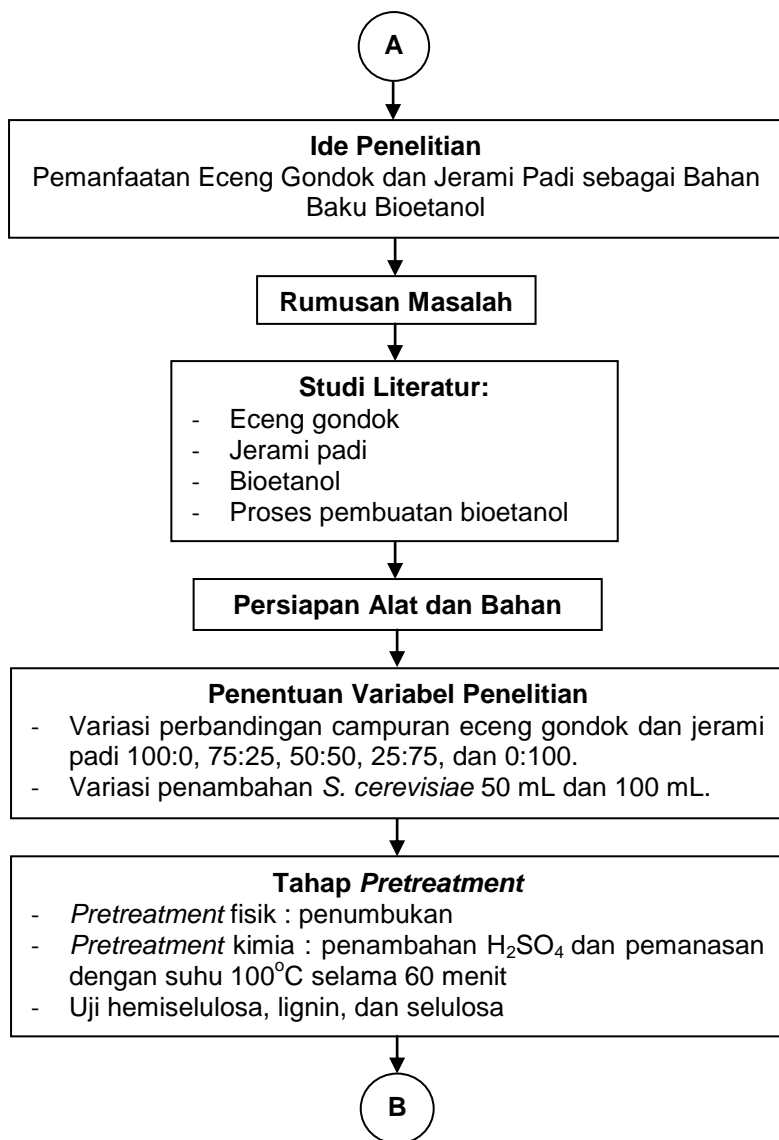
“Halaman ini sengaja dikosongkan.”

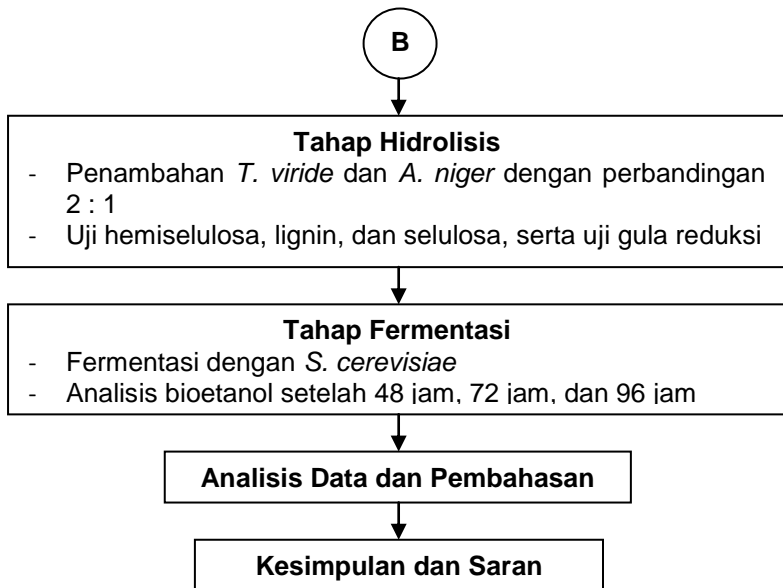
BAB 3 METODE PENELITIAN

3.1 Kerangka Penelitian

Kerangka penelitian merupakan gambaran umum pelaksanaan penelitian, yang disusun secara berurut berdasarkan tahapan pelaksanaan penelitian untuk mencapai tujuan akhir yang diinginkan. Penyusunan kerangka penelitian harus didasarkan pada studi literatur yang dilakukan, baik dari jurnal ilmiah, buku teks, laporan tugas akhir, yang mendukung pada penelitian pemanfaatan eceng gondok dan jerami padi sebagai bahan baku bioetanol. Kerangka penelitian berfungsi memberikan informasi terkait dengan penelitian guna memudahkan pelaksanaan penelitian untuk mencapai tujuan yang diinginkan. Pembuatan kerangka penelitian juga penting untuk meminimalisasi kesalahan yang dapat menghambat pelaksanaan penelitian. Kerangka penelitian yang akan dilaksanakan dalam penelitian ini dapat dilihat pada Gambar 3.1.







Gambar 3. 1 Kerangka Penelitian

3.2 Tahapan Penelitian

Tahapan penelitian merupakan bagian yang berisikan langkah-langkah yang harus dilakukan selama pelaksanaan penelitian. Bagian ini merupakan penjabaran dari kerangka penelitian yang dibuat lebih detail dan terstruktur. Pembuatan tahapan pelaksanaan penelitian yang terstruktur ini akan memudahkan peneliti dalam melaksanakan penelitiannya, sehingga peneliti tidak menyimpang dari tujuan dan sasaran awal penelitian serta akan memberikan hasil penelitian yang baik.

A. Ide Penelitian

Ide penelitian ini adalah pemanfaatan eceng gondok dan jerami padi sebagai bahan baku bioetanol. Ide ini muncul karena adanya 'GAP' antara kondisi ideal dengan kondisi realita, yaitu

banyaknya jumlah eceng gondok dan jerami padi yang belum dimanfaatkan secara optimal. Namun, dalam teorinya, eceng gondok dan jerami padi dapat dimanfaatkan sebagai bahan baku pembuatan bioetanol karena mengandung lignoselulosa.

B. Rumusan Masalah

Perumusan masalah yang ditinjau dalam penelitian ini meliputi kadar bioetanol yang dihasilkan dari variasi campuran bahan baku eceng gondok dan jerami padi dengan penambahan dosis mikroorganisme, serta menganalisis perbandingan variasi yang paling optimum untuk menghasilkan bioetanol.

C. Studi Literatur

Studi literatur yang digunakan adalah yang memiliki keterkaitan dengan penelitian, analisis, dan pembahasan hasil penelitian. Literatur tersebut berupa jurnal, hasil tugas akhir dan tesis, buku teks, serta info-info lainnya yang berkaitan dengan penelitian. Literatur yang digunakan pada penelitian ini meliputi pemahaman karakteristik eceng gondok dan jerami padi, bioetanol, serta proses pembuatan bioetanol.

D. Persiapan Alat dan Bahan

Alat yang digunakan pada penelitian ini antara lain *autoclave*, inkubator, spektrofotometer, neraca analitik, oven, tabung reaksi, jarum ose, pemanas elektrik, desikator, gelas ukur, cawan petri, labu erlenmeyer, kertas saring, *waterbath* dan reaktor berupa toples kaca dengan volume 2000 mL.

Bahan yang perlu dipersiapkan adalah eceng gondok, jerami padi, asam sulfat, kapas lemak, aquades, fermipan, stok biakan jamur *T. Viride* dan *A. niger*, media biakan *Potato Dextrose Agar* (PDA) dan *Potato Dextrose Broth* (PDB), serta reagen yang dibutuhkan dalam analisis kadar glukosa metode Nelson-Somogyi.

• Persiapan Bahan Baku

Bahan baku yang digunakan pada penelitian ini adalah eceng gondok dan jerami padi. Eceng gondok diambil dari perairan di kawasan ITS, sedangkan jerami padi diambil dari

kawasan Rungkut, Surabaya. Eceng gondok dan jerami padi masing-masing dicuci untuk menghilangkan zat-zat pengotor, kemudian dipotong kecil-kecil dan dikeringkan dalam oven 100-105°C selama 5-6 jam (Ganguly *et al.*, 2012).

- **Persiapan Media**

Media PDB dibuat dengan melarutkan 80 g PDB ke dalam 3,3 L *aquadest*, kemudian disterilisasi dengan *autoclave* dan siap digunakan untuk media tumbuh *T.viride*, *A.niger*, *S.cerevisiae*.

- **Pembuatan Stok Mikroorganisme**

Hal pertama yang dilakukan untuk membuat biakan jamur *T. viride*, *A. niger*, dan *S. cerevisiae* adalah melarutkan media PDA sebanyak 1,95 g ke dalam 50 mL *aquadest* dengan proses pemanasan. Selanjutnya dituang ke dalam 6 tabung reaksi masing-masing 5 mL dan dimasukkan ke dalam *autoclave* untuk proses sterilisasi selama 2 jam. Setelah itu, media dimiringkan hingga mengeras. Kemudian diambil masing-masing satu ose biakan jamur *T. Viride* dan *A. niger* untuk ditanamkan ke media PDA secara steril dan dimasukkan ke dalam inkubator. Biakan jamur ini akan digunakan sebagai stok.

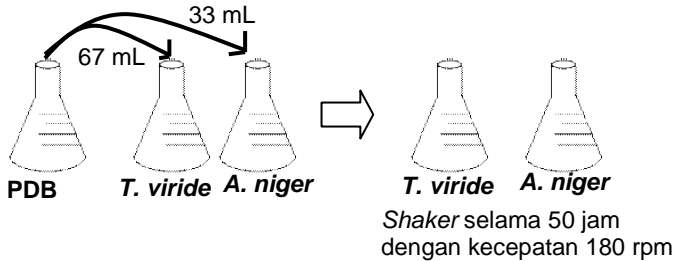
Biakan *S. Cerevisiae* dibiakan dari ragi roti fermipan. 1 g fermipan dilarutkan dalam *aquadest* 10 mL. Kemudian diambil 1 mL dan dilarutkan kembali dengan 10 mL *aquadest*. Diambil 2 mL dari pengenceran kedua dan dituang ke dalam media PDA, kemudian dimasukkan ke dalam inkubator.

- **Aklimatisasi Mikroorganisme**

Aklimatisasi mikroorganisme perlu dilakukan sebelum mikroorganisme dimasukkan ke dalam substrat. Pada penelitian ini dilakukan pembuatan inokulum *T. viride* dan *A. niger* untuk tahap hidrolisis dan *S. cerevisiae* untuk tahap fermentasi.

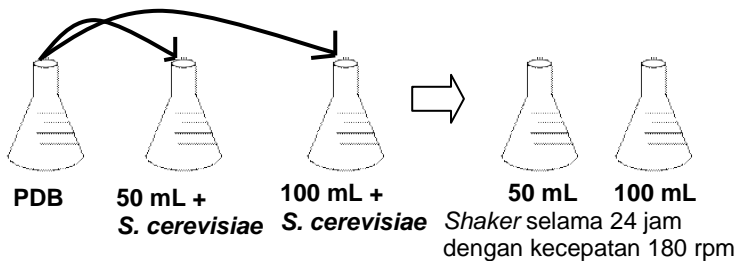
Pembuatan inokulum *T. viride* dan *A. niger* dilakukan dengan mengambil 1 ose dari masing-masing biakan *T. viride* dan *A. niger* (stok) untuk setiap 50 mL media PDB. Media PDB yang telah disiapkan sebelumnya diambil sebanyak 67 mL untuk inokulum *T. viride* dan 33 mL untuk inokulum *A. niger*. Volume media tersebut digunakan untuk satu reaktor.

Pengembangbiakan pada media PDB ini dilakukan dengan cara dishaker dengan kecepatan 180 rpm selama 50 jam berdasarkan kecepatan pertumbuhan jamur yaitu $\frac{1}{2} V_{\max}$. Gambaran kerja pembuatan inokulum *T. viride* dan *A. niger* dapat dilihat pada Gambar 3.2.



Gambar 3. 2 Gambaran Kerja Pembuatan Inokulum *T. viride* dan *A. niger*

Selanjutnya adalah pembuatan inokulum *S. cerevisiae* untuk satu reaktor. Pembuatan inokulum *S. cerevisiae* dilakukan dengan menanamkan biakan *S. cerevisiae* ke dalam media PDB 50 mL dan 100 mL dengan perlakuan yang sama terhadap *T. viride* dan *A. niger*. Pengembangbiakan di media PDB ini dilakukan dengan cara dishaker dengan kecepatan 180 rpm selama 24 jam berdasarkan kecepatan pertumbuhan *S. cerevisiae* yaitu $\frac{1}{2}$ dari V_{\max} . Gambaran kerja pembuatan inokulum *S. cerevisiae* dapat dilihat pada Gambar 3.3.



Gambar 3. 3 Gambaran Kerja Pembuatan Inokulum *S. cerevisiae*

E. Penentuan Variabel Penelitian

Penelitian ini akan dilaksanakan dengan menggunakan dua variabel yang berbeda, yaitu variasi campuran bahan baku eceng gondok dan jerami padi, serta variasi penambahan *S. cerevisiae* pada proses fermentasi. Eceng gondok dan jerami padi dicampur hingga berat total 100 gram dan dimasukkan ke dalam reaktor. Kemudian ditambahkan variasi *S. cerevisiae* pada tahap fermentasi sebanyak 50 mL dan 100 mL.

Pengambilan sampel dilakukan setelah 48 jam, 72 jam, dan 96 jam pada satu reaktor yang sama, sehingga reaktor yang dibutuhkan pada penelitian ini adalah 10 reaktor dengan 30 kali pengambilan sampel. Pengambilan sampel dimulai pada jam ke-48 karena diasumsikan pada jam ke-24, mikroorganisme masih dalam tahap adaptasi, sehingga belum efektif bekerja. Reaktor yang digunakan memiliki 40%-80% ruang terisi udara (*free board*). Variabel penelitian ini dapat dilihat pada Tabel 3.3.

Tabel 3. 1 Variabel Penelitian

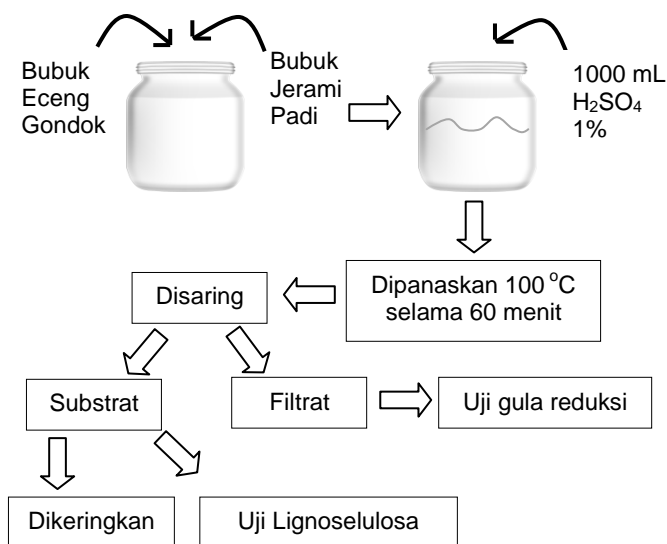
Penambahan Eceng gondok dan jerami padi	50 mL <i>S. cerevisiae</i>			100 mL <i>S. cerevisiae</i>		
	48 jam (1)	72 jam (2)	96 jam (3)	48 jam (4)	72 jam (5)	96 jam (6)
100 g + 0 g (A)	A1	A2	A3	A4	A5	A6
75 g + 25 g (B)	B1	B2	B3	B4	B5	B6
50 g + 50 g (C)	C1	C2	C3	C4	C5	C6
25 g + 75 g (D)	D1	D2	D3	D4	D5	D6
0 g + 100 g (E)	E1	E2	E3	E4	E5	E6

F. Tahap Pretreatment

Metode *pretreatment* yang digunakan adalah metode fisik-kimia, yaitu terdiri dari penggerusan bahan baku, penambahan asam, dan pemanasan. Eceng gondok dan jerami padi yang sudah kering ditumbuk atau diblender hingga berbentuk bubuk. Kemudian dicampur ke dalam toples kaca

sesuai variasi perbandingan yang sudah ditentukan dengan berat total 100 g untuk satu reaktor.

Pada penelitian yang dilakukan Ganguly *et al.* (2012), dibutuhkan 1000 mL *aquadest* untuk 100 gram substrat dan larutan H_2SO_4 1%. Selanjutnya dipanaskan pada suhu 100°C selama 60 menit (Ma *et al.*, 2010). Proses pemanasan dilakukan menggunakan *waterbath*. Kemudian substrat disaring dan dilakukan pengukuran kadar hemiselulosa, lignin, dan selulosa campuran bahan baku dengan menggunakan metode Chesson (Lampiran 1). Filtrat dari saringan substrat diambil untuk diuji kadar glukosa dengan metode Nelson-Somogyi (Lampiran 2). Substrat dikeringkan pada suhu 105°C selama 5-6 jam sebelum digunakan untuk tahap selanjutnya. Gambaran kerja pada proses *pretreatment* dapat dilihat pada Gambar 3.4.

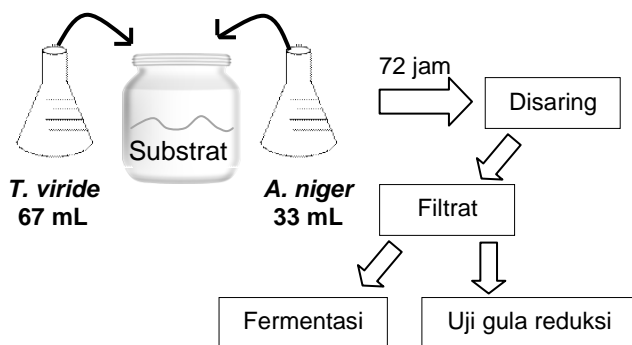


Gambar 3. 4 Gambaran Kerja pada Proses *Pretreatment*

G. Tahap Hidrolisis

Metode hidrolisis yang digunakan adalah dengan metode enzimatik. Setiap sampel ditambahkan variasi jamur *T. viride* dan *A. niger*. Pada penelitian yang telah dilakukan oleh Novembrianto dan Pandebesie (2014), proses hidrolisis dengan jamur *T. viride* dan *A. niger* didapatkan hasil maksimum selama 3 hari atau 72 jam dengan perbandingan campuran 2:1. Pada penelitian ini ditambahkan 100 mL campuran inokulum jamur *T. viride* dan *A. niger* untuk satu reaktor dengan masing-masing volume 67 mL dan 33 mL dari media PDB yang sudah disiapkan. Komposisi substrat dengan cairan menggunakan perbandingan 1:10, sehingga perlu ditambahkan *aquadest* ke dalam substrat hingga 1000 mL. Kemudian, mengkondisikan pH substrat hingga pH 5 dengan menambahkan konsentrat NaOH dan diukur menggunakan kertas pH indikator.

Setelah 72 jam, substrat disaring kemudian filtrat hasil penyaringan diambil untuk digunakan pada proses selanjutnya, serta dilakukan uji kadar gula reduksinya dengan metode Nelson-Somogyi. Gambaran kerja pada proses hidrolisis dapat dilihat pada Gambar 3.5.

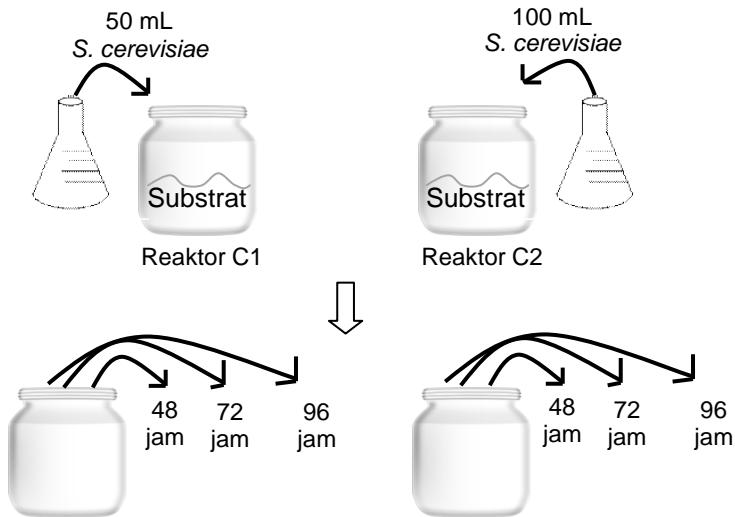


Gambar 3. 5 Gambaran Kerja pada Proses Hidrolisis

H. Tahap Fermentasi

Pada tahap fermentasi, filtrat hasil hidrolisis ditambahkan ragi *S. cerevisiae* untuk mengubah glukosa menjadi etanol. Penelitian ini merupakan pengembangan dari penelitian yang dilakukan Issani *et al.* (2014) dengan penambahan *S. cerevisiae* sebanyak 10 mL untuk 10 gram substrat. Pada penelitian ini akan dilakukan variasi penambahan *S. cerevisiae* sebanyak masing-masing 50 mL untuk 5 reaktor dan masing-masing 100 mL untuk 5 reaktor. *S. cerevisiae* yang digunakan diambil dari biakan pada media PDB yang sudah disiapkan.

Pada penelitian yang dilakukan Issani *et al.* (2014), setelah 72 jam kadar bioetanol masih rendah dan aktivitas mikroorganisme merubah gula menjadi bioetanol masih berlangsung, sehingga perlu penambahan waktu pada proses fermentasi. Oleh karena itu, pengambilan sampel untuk tahap fermentasi penelitian ini dilakukan setelah 48 jam, 72 jam, dan 96 jam. Gambaran kerja pada proses fermentasi dapat dilihat pada Gambar 3.6.



Gambar 3. 6 Gambaran Kerja pada Proses Fermentasi dan Pengambilan Sampel

Selanjutnya, hasil dari konversi gula reduksi menjadi etanol dianalisis menggunakan metode Gas Kromatografi. Analisis gas kromatografi dilakukan di Laboratorium Teknologi Bioproses dan Teknologi Lingkungan jurusan Teknik Kimia Universitas Surabaya (UBAYA).

Tahap terakhir yang dilakukan adalah mengukur sisa gula reduksi pada substrat fermentasi. Setelah 96 jam fermentasi, masing-masing substrat diambil 1 mL untuk uji gula reduksi dengan metode Nelson-Somogyi.

I. Analisis Data dan Pembahasan

Analisis data yang dilakukan pada penelitian ini antara lain:

- Analisis kandungan lignin, hemiselulosa, dan selulosa dengan metode Chesson pada setiap sampel. Analisis dilakukan pada kondisi awal (sebelum *pretreatment*) dan setelah *pretreatment*.
- Analisis gula reduksi dengan metode Nelson-Somogyi. Analisis dilakukan setelah proses *pretreatment*, setelah proses hidrolisis, dan setelah proses fermentasi.
- Analisis kadar etanol yang dihasilkan dengan metode Gas Kromatografi. Analisis dilakukan pada akhir proses fermentasi.

Data-data hasil penelitian diolah dalam bentuk tabel dan grafik sehingga mudah diamati dan diperoleh sebuah kesimpulan.

J. Kesimpulan dan Saran

Penarikan kesimpulan didasarkan pada hasil penelitian yang dilakukan dan tujuan yang dirumuskan pada awal penelitian. Kesimpulan harus berdasarkan fakta yang diperoleh selama penelitian. Pemberian saran dilakukan untuk perbaikan dan pengembangan mengenai penelitian yang dilakukan.

“Halaman ini sengaja dikosongkan.”

BAB 4

HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Potensi Eceng Gondok dan Jerami Padi sebagai Bahan Baku Bioetanol

Pemanfaatan eceng gondok dan jerami padi sebagai bahan baku bioetanol merupakan salah satu cara untuk mengurangi jumlah eceng gondok dan jerami padi di lingkungan. Hal ini didasarkan pada jumlah eceng gondok dan jerami padi di lingkungan yang melimpah dan dapat menimbulkan dampak negatif bagi lingkungan. Produksi bioetanol dengan bahan baku berlignoselulosa dapat dilakukan dengan beberapa tahap, yaitu *pretreatment*, hidrolisis, dan fermentasi.

4.1.1 Kadar Lignoselulosa Eceng Gondok dan Jerami Padi

Data awal hasil pengukuran kandungan awal hemiselulosa, selulosa, dan lignin eceng gondok dan jerami padi dapat dilihat pada Tabel 4.1.

Tabel 4. 1 Hasil Analisis Kandungan Awal Lignoselulosa pada Eceng Gondok dan Jerami Padi

Substrat	Hemiselulosa (%)	Selulosa (%)	Lignin (%)
100 : 0	38	29	11
75 : 25	31	26	12
50 : 50	32	28	13
25 : 75	28	25	13
0 : 100	23	23	12

Pada Tabel 4.1, eceng gondok memiliki kandungan hemiselulosa dan selulosa yang lebih tinggi dari jerami padi. Kandungan lignoselulosa masing-masing eceng gondok dan jerami padi pada penelitian ini berbeda dengan hasil analisis penelitian terdahulu. Hal ini dapat disebabkan karena eceng

gondok dan jerami padi yang digunakan berasal dari sumber dan negara yang berbeda.

Persentase hemiselulosa (38%) dan selulosa (29%) pada eceng gondok lebih tinggi dari persentase hemiselulosa (23%) dan selulosa (23%) pada jerami padi. Pada campuran 75:25 (eceng gondok 75 g dan jerami padi 25 g) kandungan hemiselulosa dan selulosa lebih rendah dibanding dengan campuran 100:0 (100 g eceng gondok), yaitu 31% dan 26%. Penurunan ini disebabkan adanya pengurangan berat eceng gondok dan penambahan jerami padi yang memiliki kandungan hemiselulosa dan selulosa yang lebih rendah.

Hal ini berbanding terbalik dengan campuran 25:75 (25 g eceng gondok dan 75 g jerami padi) yang memiliki kandungan hemiselulosa dan selulosa yang lebih tinggi dari campuran 0:100 (100 g jerami padi), yaitu 28% dan 23%. Peningkatan ini disebabkan adanya pengurangan berat jerami padi dan penambahan berat eceng gondok yang memiliki kandungan hemiselulosa dan selulosa lebih tinggi.

4.1.2 Kadar Lignoselulosa hasil *Pretreatment*

Kadar hemiselulosa, selulosa, dan lignin pada substrat eceng gondok dan jerami padi setelah proses *pretreatment* dapat dilihat pada Tabel 4.2.

Tabel 4. 2 Kandungan Hemiselulosa, Selulosa, dan Lignin setelah *Pretreatment*

Substrat	Hemiselulosa (%)	Selulosa (%)	Lignin (%)
100 : 0	26	42	17
75 : 25	24	39	20
50 : 50	25	39	17
25 : 75	21	38	26
0 : 100	21	31	24

Corredor (2008) menyatakan bahwa *pretreatment* berfungsi untuk delignifikasi, menurunkan kadar hemiselulosa, dan

mengurangi kristalinitas selulosa sehingga menghasilkan permukaan yang mudah diakses oleh enzim selulase (Corredor, 2008). Namun, Tabel 4.2 menunjukkan bahwa setelah *pretreatment* dilakukan, kadar hemiselulosa mengalami penurunan, sedangkan kadar selulosa dan lignin mengalami peningkatan.

Penurunan kadar hemiselulosa disebabkan struktur yang dimiliki hemiselulosa sebagian besar bersifat lunak (amorf), sehingga sensitif dan mudah dipecah oleh asam (Corredor, 2008). Hal ini berbeda dengan kadar selulosa. Yuanita (2006) menyatakan bahwa peningkatan kadar selulosa setelah *pretreatment* menggunakan asam sulfat dapat meningkatkan kadar pati tidak tercerna yang terukur sebagai selulosa.

Peningkatan kadar lignin setelah proses *pretreatment* dengan asam sulfat dapat terjadi akibat struktur lignin lisis dan mengakibatkan sebagian molekulnya terkondensasi dan mengendap (Fengel dan Wegener, 1995 dalam Nofriadi, 2009). Selain itu, hal ini juga dapat disebabkan terbentuknya 'benda lignin' atau lignin semu yang terjadi akibat ikatan silang ester dengan polisakarida dan terukur sebagai lignin selama proses *pretreatment* berlangsung (Yuanita, 2006; Pu *et al.*, 2013).

4.1.3 Kadar Gula Reduksi hasil *Pretreatment*

Kandungan gula reduksi substrat campuran eceng gondok dan jerami padi setelah *pretreatment* dapat dilihat pada Tabel 4.3.

Tabel 4. 3 Kandungan Gula Reduksi Eceng Gondok dan Jerami Padi setelah *Pretreatment*

Substrat	Gula Reduksi (mg/g)
100 : 0	3,149
75 : 25	2,769
50 : 50	2,465
25 : 75	2,184
0 : 100	1,845

Tabel 4.3 menunjukkan bahwa eceng gondok 100% mengandung gula reduksi paling besar (3,149 mg/g), sedangkan jerami padi memiliki kandungan gula reduksi paling kecil (1,845 mg/g). Pada campuran bahan baku, kandungan gula reduksi terbesar terdapat pada campuran 75:25 (2,769 mg/g). Jumlah gula reduksi ini berbanding lurus dengan kandungan hemiselulosa, selulosa, dan lignin pada eceng gondok dan jerami padi. Semakin tinggi kandungan selulosa, maka semakin tinggi gula reduksi yang dihasilkan.

Kadar gula reduksi pada penelitian ini tergolong rendah dibandingkan dengan penelitian terdahulu. Kadar gula reduksi hasil penelitian Issani *et al.* (2014) sebesar 9,88 mg/g dengan bahan baku eceng gondok, sedangkan pada penelitian Ariyani *et al.* (2013) sebesar 70,85 mg/g dengan bahan baku jerami padi. Kadar gula reduksi yang rendah ini dapat disebabkan karena proses *pretreatment* yang belum maksimal, sehingga masih terdapat lapisan lignin yang belum terpecah.

4.1.4 Pengaruh Hidrolisis Eceng Gondok dan Jerami Padi menggunakan *T. viride* dan *A. niger*

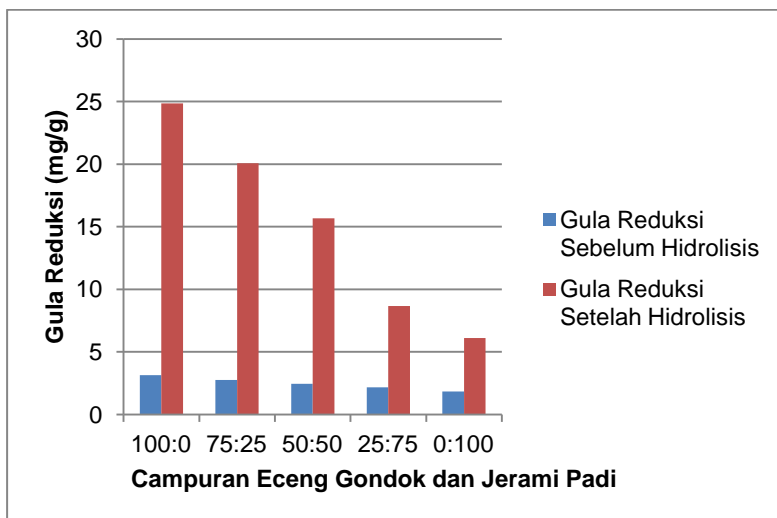
Kadar gula reduksi substrat setelah proses hidrolisis dapat dilihat pada Tabel 4.4.

Tabel 4. 4 Kadar Gula Reduksi Eceng Gondok dan Jerami Padi setelah Hidrolisis

Substrat	Gula Reduksi Sebelum Hidrolisis (mg/g)	Gula Reduksi Setelah Hidrolisis (mg/g)	Peningkatan (%)
100 : 0	3,149	24,863	87%
75 : 25	2,769	20,059	86%
50 : 50	2,465	15,667	84%
25 : 75	2,184	8,667	75%
0 : 100	1,845	6,098	70%

Tabel 4.4 menunjukkan bahwa kadar gula reduksi setelah hidrolisis mengalami peningkatan dibandingkan sebelum hidrolisis atau pada saat setelah *pretreatment*. Peningkatan gula reduksi ini disebabkan kandungan selulosa pada bahan baku telah terhidrolisis menjadi glukosa dan hemiselulosa menjadi pentosa (xilosa dan arabinosa) dan heksosa (mannosa) (Corredor, 2008).

Kadar gula reduksi tertinggi terdapat pada substrat 100:0. Pada substrat 100:0, kadar gula reduksi meningkat sebesar 87% dari kadar awal. Pada campuran bahan baku, kadar gula reduksi tertinggi terdapat pada campuran 75:25 yaitu sebesar 20,059 mg/g dengan peningkatan 86% dari kadar awal. Peningkatan gula reduksi sebelum dan setelah proses hidrolisis disajikan dalam bentuk diagram pada Gambar 4.1.



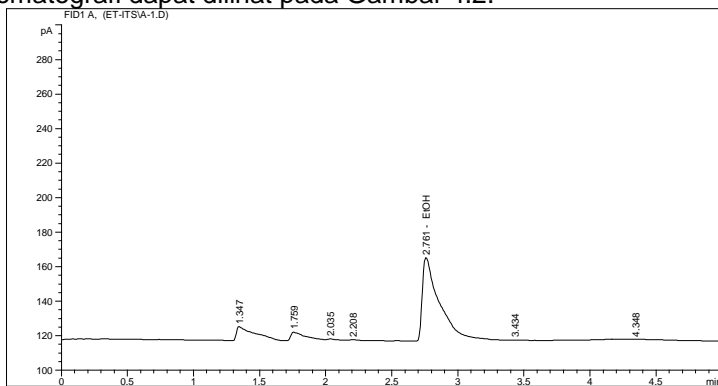
Gambar 4. 1 Grafik Peningkatan Gula Reduksi Eceng Gondok dan Jerami Padi

Berdasarkan hasil peningkatan gula reduksi, efektivitas *T. viride* dan *A. niger* dalam menghidrolisis selulosa lebih optimum terjadi pada substrat yang mengandung eceng gondok. Perbandingan 0:100 memiliki kadar gula reduksi yang rendah, namun saat dicampur dengan eceng gondok, mengalami peningkatan. Hal ini dapat disebabkan karena eceng gondok mengandung selulosa yang lebih tinggi dibanding jerami padi, sedangkan jerami padi mengandung lignin yang lebih tinggi yang merupakan penghalang selulosa.

Tingkat keberhasilan proses hidrolisis enzimatis dipengaruhi oleh proses *pretreatment* yang dilakukan sebelumnya. Enzim selulase yang dihasilkan mikroorganisme akan memecah selulosa menjadi glukosa. Oleh karena itu, perlu dilakukan delignifikasi agar selulosa mudah diakses (Amaral, 2012). Namun, pada penelitian ini, lignin tidak terpecah secara sempurna, sehingga proses hidrolisis tidak maksimal dan menghasilkan gula reduksi yang tergolong rendah.

4.2 Kadar Bioetanol setelah Fermentasi menggunakan *S. cerevisiae*

Salah satu hasil uji etanol dengan metode gas kromatografi dapat dilihat pada Gambar 4.2.



Gambar 4. 2 Kromatogram sampel A1

Gambar 4.2 merupakan salah satu kromatogram dari sampel A1. Puncak tersebut terdapat pada waktu retensi 2,761 menit dengan intensitas area sebesar 451,25604 pA. Hasil kromatogram menunjukkan etanol terdeteksi secara kuantitatif pada seluruh sampel. Grafik kromatogram dari seluruh sampel dapat dilihat pada Lampiran 7.

Berdasarkan hasil uji gas kromatografi, maka didapatkan data konsentrasi etanol. Konsentrasi etanol setelah proses fermentasi dapat dilihat pada Tabel 4.5.

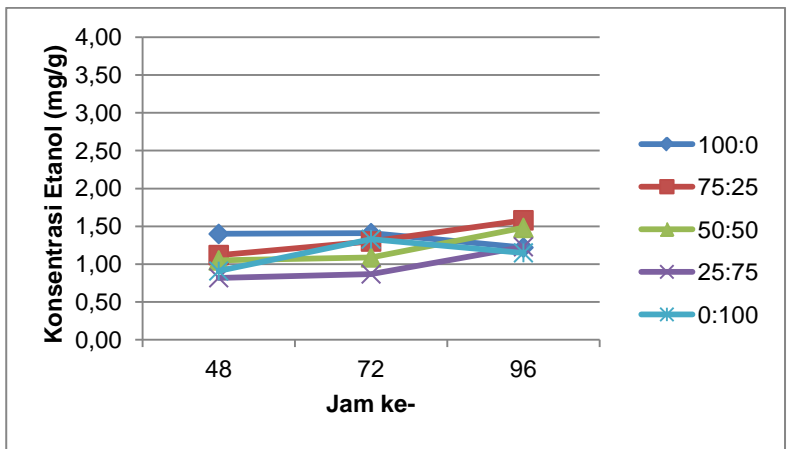
Tabel 4. 5 Konsentrasi Etanol setelah Proses Fermentasi

Substrat	Konsentrasi Etanol (mg/g)					
	50 mL <i>S. cerevisiae</i>			100 mL <i>S. cerevisiae</i>		
	48 jam	72 jam	96 jam	48 jam	72 jam	96 jam
100:0	1,40	1,41	1,22	2,41	2,42	3,02
75:25	1,12	1,30	1,58	2,34	2,60	3,50
50:50	1,05	1,09	1,48	1,27	2,22	1,36
25:75	0,82	0,87	1,23	2,05	2,87	3,21
0:100	0,91	1,33	1,15	1,00	1,70	1,38

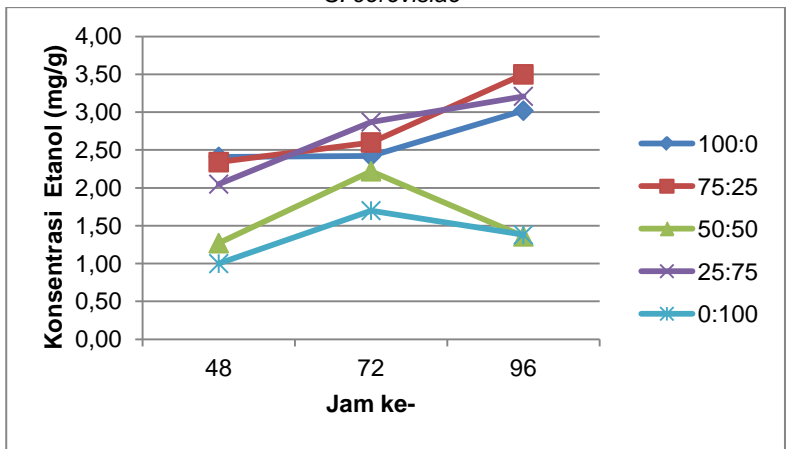
Pada proses fermentasi, dilakukan variasi penambahan *S.cerevisiae* sebanyak 50 mL dan 100 mL. Konsentrasi etanol pada substrat selama 96 jam dengan penambahan 50 mL *S. cerevisiae* disajikan dalam bentuk grafik pada Gambar 4.3, dan penambahan 100 mL *S. cerevisiae* pada Gambar 4.4.

Gambar 4.3 menunjukkan bahwa dengan penambahan 50 mL *S. cerevisiae*, konsentrasi etanol tertinggi terdapat pada campuran 75:25 dengan waktu optimum 96 jam, yaitu sebesar 1,58 mg/g. Hal yang sama terjadi pada penambahan 100 mL *S. cerevisiae*, konsentrasi etanol tertinggi terdapat pada campuran 75:25 dengan waktu optimum 96 jam, yaitu sebesar 3,50 mg/g. Penelitian ini menghasilkan konsentrasi etanol yang lebih besar dibandingkan penelitian Issani *et al.* (2014) dengan konsentrasi etanol sebesar 2,37 mg/g untuk bahan baku eceng gondok.

Namun, menghasilkan konsentrasi etanol yang lebih kecil dibandingkan penelitian Abedinifar *et al.* (2009) dengan kadar etanol sebesar 0,37 g/g untuk bahan baku jerami padi.



Gambar 4. 3 Konsentrasi Etanol dengan Penambahan 50 mL *S. cerevisiae*



Gambar 4. 4 Konsentrasi Etanol dengan Penambahan 100 mL *S. cerevisiae*

Rendahnya kadar etanol yang dihasilkan pada penelitian ini dapat disebabkan oleh terbentuknya senyawa inhibitor berupa lignin, asam lemah, serta turunan senyawa fenolik (Lin *et al.*, 2012). Terbentuknya senyawa inhibitor ini dapat disebabkan karena tidak dilakukan detoksifikasi dan *overliming* dengan $\text{Ca}(\text{OH})_2$ setelah proses *pretreatment* asam. Hal ini perlu dilakukan untuk menguapkan senyawa volatil seperti furfural dan fenol, serta menghilangkan atau mengurangi senyawa asam lainnya (Kumar *et al.*, 2009). Selain itu, proses *pretreatment* dan hidrolisis sebelumnya juga dapat mempengaruhi proses fermentasi.

Jika konsentrasi etanol dilihat dari perubahan waktu, konsentrasi etanol terus meningkat hingga 72 jam, namun setelah 96 jam beberapa substrat mengalami penurunan dan peningkatan. Penurunan konsentrasi etanol pada jam ke-96 dapat terjadi akibat kandungan glukosa dalam substrat telah habis terfermentasi oleh mikroorganisme dan kemungkinan adanya kontaminan, yaitu mikroorganisme lain selain *S. cerevisiae* yang tumbuh dalam substrat (Merina dan Trihadiningrum, 2011).

Lin *et al.* (2012) menyatakan bahwa konsentrasi gula reduksi pada substrat akan berbanding lurus dengan konsentrasi etanol yang dihasilkan. Semakin tinggi gula reduksi yang dimiliki, maka semakin tinggi juga etanol yang dihasilkan. Hal yang berbeda terjadi pada penelitian ini, kandungan gula reduksi yang tertinggi terdapat dalam campuran 100:0. Namun, konsentrasi etanol optimum terdapat dalam campuran 75:25. Hal ini dapat disebabkan pada campuran 100:0, *S. cerevisiae* tidak bekerja optimum dan terbentuknya inhibitor akibat konsentrasi gula reduksi yang tinggi dengan keadaan pH tidak terkontrol.

Lin *et al.* (2012) menyatakan bahwa pH optimum proses fermentasi adalah pH 4-5. Apabila pH terlalu rendah, produk utama yang dihasilkan adalah asam asetat. Apabila pH di atas pH 5, glukosa akan dikonsumsi mikroorganisme dan dikonversi menjadi produk samping, sehingga efisiensi pembentukan etanol menurun. Oleh karena itu, sebelum dan sesudah proses

fermentasi perlu dilakukan pengukuran pH untuk mengetahui kondisi optimum substrat.

Setelah proses fermentasi, pembentukan etanol akan berbanding terbalik dengan sisa kadar gula reduksi pada substrat. Kadar gula reduksi akan menurun seiring dengan terbentuknya etanol. Sisa kadar gula reduksi pada substrat setelah fermentasi dapat dilihat pada Tabel 4.6 dan Tabel 4.7.

Tabel 4. 6 Kadar Gula Reduksi setelah Fermentasi dengan Penambahan 50 mL *S. cerevisiae*

Substrat	Setelah Hidrolisis (mg/g)	Setelah Fermentasi (mg/g)	Pemakaian Gula Reduksi (mg/g)	Penurunan (%)
100:0	24,863	2,745	22,118	89
75:25	20,059	6,569	13,490	67
50:50	15,667	6,451	9,216	59
25:75	8,667	5,176	3,491	40
0:100	6,098	2,569	3,529	58

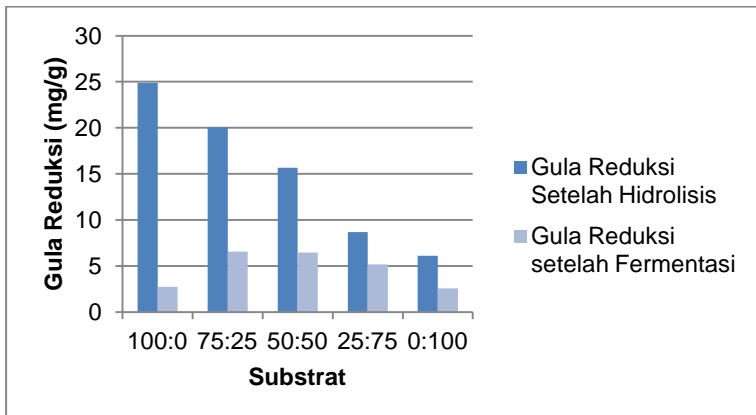
Tabel 4. 7 Kadar Gula Reduksi setelah Fermentasi dengan Penambahan 100 mL *S. cerevisiae*

Substrat	Setelah Hidrolisis (mg/g)	Setelah Fermentasi (mg/g)	Pemakaian Gula Reduksi (mg/g)	Penurunan (%)
100:0	24,863	9,863	14,997	60
75:25	20,059	2,706	17,354	87
50:50	15,667	7,431	8,236	53
25:75	8,667	5,686	2,984	34
0:100	6,098	4,196	1,904	31

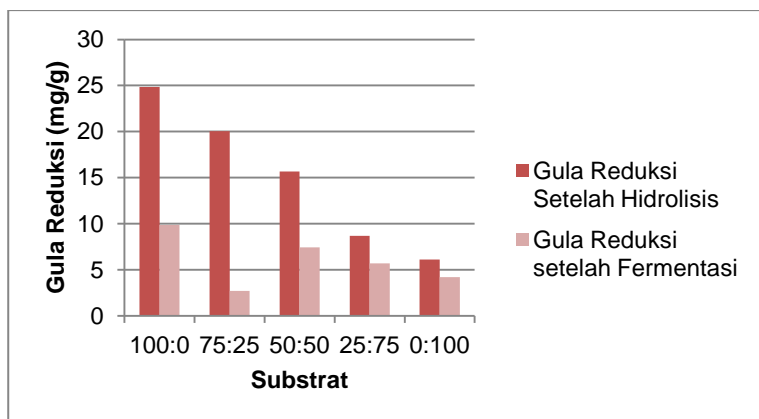
Tabel 4.6 dan Tabel 4.7 menunjukkan bahwa gula reduksi mengalami penurunan dan masih tersisa setelah proses

fermentasi. Sisa kadar gula reduksi tertinggi dengan penambahan 50 mL *S. cerevisiae* adalah sebesar 22,118 mg/g pada substrat 100:0, sedangkan pada penambahan 100 mL *S. cerevisiae*, sisa kadar gula reduksi tertinggi sebesar 17,534 mg/g dalam substrat 75:25.

Penurunan kadar gula reduksi setelah proses fermentasi dengan penambahan 50 mL *S. cerevisiae* disajikan dalam bentuk grafik pada Gambar 4.5, dan penambahan 100 mL *S. cerevisiae* pada Gambar 4.6. Gambar 4.5 menunjukkan penurunan tertinggi dengan penambahan 50 mL *S. cerevisiae* terdapat pada substrat 100:0, yaitu sebesar 89%. Gambar 4.6 menunjukkan penurunan tertinggi dengan penambahan 100 mL *S. cerevisiae* terdapat pada substrat 75:25, yaitu sebesar 87%.



Gambar 4. 5 Penurunan Kadar Gula Reduksi setelah Proses Fermentasi dengan Penambahan 50 mL *S. cerevisiae*



Gambar 4. 6 Penurunan Kadar Gula Reduksi setelah Proses Fermentasi dengan Penambahan 100 mL *S. cerevisiae*

Pada penelitian ini, kadar gula reduksi mengalami penurunan yang cukup signifikan. Namun, hasil etanol yang dihasilkan tergolong rendah. Hal ini dapat disebabkan kadar gula reduksi pada substrat mengandung lebih banyak polisakarida yang belum terhidrolisis sempurna saat proses hidrolisis. Pada saat proses fermentasi, ragi melakukan dua aktivitas, yaitu mengubah monosakarida menjadi etanol dan menghidrolisis polisakarida (Merina dan Trihadiningrum, 2011).

BAB 5

KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Kesimpulan yang dapat diperoleh dari penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Eceng gondok dan jerami padi berpotensi rendah apabila digunakan secara bersamaan atau dicampur untuk bahan baku bioetanol karena gula reduksi yang dihasilkan campuran bahan baku lebih kecil dibandingkan dengan bahan baku yang tidak dicampur. Kadar gula reduksi tertinggi sebesar 24,863 mg/g pada campuran 100:0.
2. Konsentrasi optimum bioetanol terdapat pada campuran eceng gondok dan jerami padi 75:25 sebesar 3,50 mg/g dengan penambahan 100 mL *S. cerevisiae* dan lama fermentasi 96 jam.

5.2 Saran

Saran yang diberikan untuk penelitian selanjutnya adalah sebagai berikut:

1. Dilakukan penelitian lebih lanjut terhadap proses *pretreatment* dengan menaikkan suhu dan penambahan variasi waktu pemanasan untuk memecah lignin, selulosa, dan hemiselulosa.
2. Perlu dilakukan pengukuran pH sebelum dan sesudah proses fermentasi untuk mendapatkan hasil etanol yang lebih optimum.

“Halaman ini sengaja dikosongkan.”

DAFTAR PUSTAKA

- Abedinifar, S., Karimi, K., Khanahmadi., dan Taherzadeh, M. J. 2009. **Ethanol Production by *Mucor Indicus* and *Rhizopus Oryzae* from Rice Straw by Separate Hydrolysis and Fermentation.** Biomass and Bioenergy vol. 33, pp: 828-833.
- Alrikson, B. 2006. **Ethanol from Lignocellulose: Alkali Detoxification of Dilute-Acid Spruce Hydrolysates.** Thesis. Faculty of Technology and Science Biochemistry: Karlstads University.
- Amaral, C. 2012. **Pemanfaatan Sampah Daun Eceng Gondok (*Eichhornia crassipes*) menjadi Bioetanol dengan Proses Fermentasi sebagai Solusi Energi Alternatif.** Undergraduate thesis: Universitas Diponegoro.
- Ariyani, E., Kusumo, E., dan Supartomo. 2013. **Produksi Bioetanol dari Jerami Padi (*Oryza sativa L*).** Indonesian Journal of Chemical Science vol.2, pp: 167-172.
- Arnata, I.W. 2009. **Pengembangan Alternatif Teknologi Bioproses Pembuatan Bioetanol dari Ubi Kayu Menggunakan *Trichoderma viride*, *Aspergillus niger*, dan *Saccharomyces cerevisiae*.** Tesis. Sekolah Pascasarjana, Institut Pertanian Bogor.
- Aswathy, U.S., Sukumaran, R.K., Devi, G.L., Rajasree, K.P., Singhanian, R.R., dan Pandey, A. 2010. **Bio-Ethanol from Water Hyacinth Biomass: An Evaluation of Enzymatic Saccharification Strategy.** Bioresource Technology vol.101, pp: 925-930.
- Balan, V., Bals, B., Chundawat, S.P.S., Marshall, D., dan Dale, B.E. 2009. **Lignocellulosic Biomass Pretreatment using AFEX.** Methods in Molecular Biology vol. 581, pp: 61-77.
- Bayrakci, A.G. dan Koçar, G. 2014. **Second-Generation Bioethanol Production from Water Hyacinth and Duckweed in Izmir: A Case Study.** Renewable And Sustainable Energy Reviews Vol. 30, Pp: 306-316.

- Binod, P., Sindhu, R., Singhanian R.R., Vikram, S., Devi, L., Nagalakshmi, S., Kurien, N., Sukumaran, R.K., dan Pandey, A. 2010. **Bioethanol Production from Rice Straw: An Overview**. Bioresource Technology vol. 101, pp: 4767-4774.
- Corredor, D. Y. 2005. **Pretreatment and Enzymatic Hydrolysis of Lignocellulosic Biomass**. An Abstract of Dissertation Department of Biological and Agricultural Engineering, Kansas State University.
- Das, A., Paul, T., Jana, A., Halder, S. K., Ghosh, K., Maity, C., Mohapatra, P. K. D., Pati, B. R., dan Mondal, K. C. 2013. **Bioconversion of Rice Straw to Sugar Using Multizyme Complex of Fungal Origin and Subsequent Production of Bioethanol by Mixed Fermentation of *Saccharomyces cerevisiae* MTCC 173 and *Zymomonas mobilis* MTCC 2428**. Industrial Crops and Products vol. 46, pp: 217– 225.
- Dubey, A.K., Gupta, P.K., Garg, N., dan Naithani, S. 2012. **Bioethanol Production from Waste Paper Acid Pretreated Hydrolyzate with Xylose Fermenting *Pichia stipitis***. Carbohydrate Polymers vol. 88, pp: 825-829.
- Effendi, D.S. 2010. **Prospek Pengembangan Tanaman Aren (*Arenga pinnata* Merr) Mendukung Kebutuhan Bioetanol di Indonesia**. Indonesian Center for Estate Crops Research and Development vol. 9, no. 1, hal: 36-46.
- Endah, Sperisa, Nur, A., dan Paryanto. 2007. **Pengaruh Kondisi Fermentasi terhadap Yield Etanol pada Pembuatan Bioetanol dari Pati Garut**. Gema Teknik. Jurusan Teknik Kimia, Fakultas Teknik, Universitas Sebelas Maret.
- Ganguly, A., Chatterjee, P.K., dan Dey, A. 2012. **Studies on Ethanol Production from Water Hyacinth – A Review**. Renewable and Sustainable Energy Reviews vol. 16, pp: 966-972.
- Gunam, I.B.W., Aryanta, W.R., dan Darma, I.B.N.S. 2011. **Produksi Selulase Kasar dari Kapang *Trichoderma viride* dengan Perlakuan Konsentrasi Substrat Ampas**

- Tebu dan Lama Fermentasi.** Jurnal Biologi vol. 15, hal: 29-33.
- Huber, G.W., Shabaker, J.W., dan Dumesic, J.A. 2003. **Raney Ni-Sn Catalyst for H₂ Production from Biomass-Derived Hydrocarbons.** Science Magazine vol. 300, no. 5628, pp: 2075-2077.
- Issani, W.M., Warmadewanthi, dan Pandebesie, E.S. 2014. **Proses Fermentasi Eceng Gondok Oleh *saccharomyces Cerevisiae* dengan Metode *Simultaneous Saccharification and Fermentation (SSF)*.** Seminar Nasional Teknologi Lingkungan XI – ITS, Surabaya, 3 Desember 2014.
- Jannah, A.M. 2010. **Proses Fermentasi Hidrolisat Jerami Padi untuk Menghasilkan Bioetanol.** Jurnal Teknik Kimia vol. 17, no. 1.
- Juhász, T., Kozma, K., Szengyel, Z., dan Réczey, K. 2003. **Production of β -glucosidase in Mixed Culture of *Aspergillus niger* BKM F 1305 and *Trichoderma reesei* RUT C30.** Food Technol. Biotechnol. Vol. 41, pp: 49–53.
- Kodri, Argo, B.D., dan Yulianingsih, R. 2013. **Pemanfaatan Enzim Selulase dari *Trichoderma reesei* dan *Aspergillus niger* sebagai Katalisator Hidrolisis Enzimatik Jerami Padi dengan *Pretreatment* Microwave.** Jurnal Bioproses Komoditas Tropis vol. 1, hal: 36-43.
- Kim, S. dan Dale, B.E. 2004. **Global Potential Bioethanol Production from Wasted Crops and Crop Residues.** Biomass and bioenergy vol. 26, pp: 361-375.
- Kumar, A., Singh, L. K., dan Gosh, S. 2009. **Bioconversion of Lignocellulosic Fraction of Water Hyacinth (*Eichhornia crassipes*) Hemicellulose Acid Hydrolysate to Ethanol by *Pichia stipitis*.** Bioresource Technology vol. 100, pp: 3293–3297.
- Lin, Y., Zhang, W., Li, C., Sakakibara, K., Tanaka, S., dan Kong, H. 2012. **Factors Affecting Ethanol Fermentation using *Saccharomyces cerevisiae* BY4742.** Biomass and Bioenergy xxx, pp: 1-7.

- Ma, F., Yang, N., Xu, C., Yu, H., Wu, J., dan Zhang, X. 2010. **Combination of Biological *Pretreatment* with Mild Acid *Pretreatment* for Enzymatic Hydrolysis and Ethanol Production from Water Hyacinth.** Bioresource Technology vol. 101, pp: 9600-9604.
- Merina, F., dan Trihadiningrum, Y. 2011. **Produksi Bioetanol dari Eceng Gondok (*Eichhornia crassipes*) dengan *Zymomonas mobilis* dan *Saccharomyces cerevisiae*.** Prosiding Seminar Nasional Manajemen Teknologi XIII, Program Studi MMT-ITS, Surabaya 5 Februari 2011.
- Mood, S.H., Golfeshan, A.H., Tabatabaei, M., Jouzani, G.S., Najafi, G.H., Gholami, M., dan Ardjmand, M. 2013. **Lignocellulosic Biomass to Bioethanol, a Comprehensive Review with a Focus on *Pretreatment*.** Renewable and Sustainable Energy Reviews vol. 27, pp: 77-93.
- Mosier, N., Wyman, C., Dale, B., Elander, R., Lee, Y.Y., Holtzapple, M., dan Ladisch, M. 2005. **Features of Promising Technologies for *Pretreatment* of Lignocellulosic Biomass.** Bioresource Technology vol. 96, pp: 673-686.
- Nigam, J.N. 2002. **Bioconversion of Water-Hyacinth (*Eichhornia crassipes*) Hemicellulose Acid Hydrolysate to Motor Fuel Ethanol by Xylose-Fermenting Yeast.** Journal of Biotechnology vol. 97, pp: 107-116.
- Nofriadi, E. 2009. **Keragaman Nilai Lignin Terlarut Asam (*Acid Soluble Lignin*) dalam Kayu Reaksi *Pinus merkusii* Jungh et de Vriese dan *Gnetum gnemon* Linn.** Skripsi. Departemen Hasil Hutan, Fakultas Kehutanan, Institut Pertanian Bogor.
- Novembrianto, R., dan Pandebesie, E. S. 2014. **Laju Biokonversi Eceng Gondok (*Eichhornia crassipes*) pada Proses Hidrolisis oleh Jamur Selulotik.** Seminar Nasional Pascasarjana XIV, ITS Surabaya 7 Agustus 2014.
- Novia, Mathilda, E.T., dan Septia, P.D. 2012. ***Alkaline Pretreatment* dan Proses Simultan Sakaritikasi-Fermentasi (SSF) untuk Memproduksi Bioetanol**

- Berbahan Baku Jerami Padi.** Prosiding Seminar Nasional AVoER IV Tahun 2012, Universitas Sriwijaya.
- Nurfiana, F., Mukaromah, U., Jeannisa, V. C., dan Putra, S. 2009. **Pembuatan Bioethanol dari Biji Durian sebagai Sumber Energi Alternatif.** Seminar Nasional V, SDM Teknologi Nuklir, Yogyakarta.
- Osvaldo, Putra, P., dan Faizal, M. 2012. **Pengaruh Konsentrasi Asam dan Waktu pada Proses Hidrolisis dan Fermentasi Pembuatan Bioetanol dari Alang-Alang.** Jurnal Teknik Kimia No.2, Vol. 18.
- Pu, Y., Hu, F., Huang, F., Davidson, B. H., dan Ragauskas, A. J. 2013. **Assessing the Molecular Structure Basis for Biomass Recalcitrance during Dilute Acid and Hydrothermal Pretreatments.** Biotechnology for Biofuels vol. 6.
- Rajoka, M.I. 2005. **The Enzymatic Hydrolysis and Fermentation of Pretreated Wheat Straw and Bagasse to Ethanol.** ATDF Journal vol. 2, pp: 29-35.
- Safaria, S., Idiawati, N., dan Zaharah, T.A. 2013. **Efektivitas Campuran Enzim Selulase dari *Aspergillus Niger* dan *Trichoderma Reesei* dalam Menghidrolisis Substrat Sabut Kelapa.** JKK vol. 2, hal: 46-51.
- Singh, A. dan Bishnoi, N.R. 2013. **Comparative Study of Various Pretreatment Techniques for Ethanol Production from Water Hyacinth.** Industrial Crops and Products vol. 44, pp: 283-289.
- Sugiyono, A. 2008. **Pengembangan Bahan Bakar Nabati untuk Mengurangi Dampak Pemanasan Global.** Peneliti Bidang Perencanaan Energi, Badan Pengkajian dan Penerapan Teknologi.
- Sulistyaningtyas, A.S., Prasetyawan, S., dan Sutrisno. 2013. **Pengaruh Penambahan Ion Fe^{3+} terhadap Aktivitas Xilanase dari *Trichoderma viride*.** Universitas Brawijaya, Student Journal vol. 2, pp: 470-476.
- Talebnia, F., Karakashev, D., dan Angelidaki, I. 2010. **Production of Bioethanol from Wheat Straw: An Overview on Pretreatment, Hydrolysis and**

- Fermentation.** Bioresource Technology vol.101, pp: 4744-4753.
- Tribak, M., Ocampo, J.A., Garcia-Romera, I. 2002. **Production of Xyloglucanolytic Enzymes by *Trichoderma viride*, *Paecilomycesfarinosus*, *Wardomyces inflatus*, and *Pleurotus ostreatus*.** Mycologia vol.3, pp: 404-410.
- Ul-Haq, I., Javed, M.M., Khan, T.S., dan Siddiq, Z. 2005. **Cotton Saccharifying Activity of Cellulases Produced by Co-culture of *Aspergillus niger* and *Trichoderma viride*.** Research Journal of Agriculture and Biological Sciences vol. 1, pp: 241-245.
- Wang, Y.H., Zhou, J., Chu, J., Qian, J.C., Zhang, S.L., dan Zhuang, Y.P. 2009. **Production and Distribution of β -glucosidase in a Mutant Strain *Trichoderma viride* T 100-14.** New Biotechnology vol. 26, pp: 150-156.
- Yuanita, L. 2006. **Pengaruh Kadar Pektat, Hemiselulosa, Lignin, dan Selulosa terhadap Persentase Fe Terikat oleh Makromolekul Serat Pangan: Variasi pH dan Lama Perebusan.** Indonesian Journal of Chemical Science vol. 6, pp: 332-337.
- Yusak, Y. 2004. **Pengaruh Suhu dan Ph Bufer Asetat terhadap Hidrolisa Cmc oleh Enzim Selulase dari Ekstrak *Aspergillus Niger* dalam Media Campuran Onggok dan Dedak.** Jurnal Sains Kimia vol. 8, hal: 35-37.
- Zhao, X. dan Bai, F. 2009. **Mechanisms of Yeast Stress Tolerance and i'ts Manipulation for Efficient Fuel Ethanol Production.** Journal Biotechnology vol. 144, pp: 23–30.

LAMPIRAN

Lampiran 1. Uji kadar hemiselulosa, selulosa, dan lignin

Prosedur uji kadar hemiselulosa, selulosa, dan lignin berdasarkan metode Chesson adalah sebagai berikut:

1. 1-2 gram sampel (berat a) dicampur dengan 150 mL *aquadest*.
2. Sampel dipanaskan pada suhu 100°C selama 2 jam.
3. Sampel disaring dengan kertas saring kemudian dibilas dengan *aquadest*.
4. Bagian padat dikeringkan dengan oven pada suhu 105°C sampai konstan dan ditimbang beratnya (berat b).
5. Sampel yang sudah dikeringkan dicampur dengan 150 mL larutan H₂SO₄ 1 N, dipanaskan pada suhu 100°C selama 2 jam.
6. Sampel kemudian diberi perlakuan seperti langkah (3) dan (4) lalu ditimbang beratnya (berat c).
7. Sampel hasil langkah (6) kemudian dicampur dengan larutan H₂SO₄ 72% sebanyak 10 mL.
8. Dilakukan perendaman terhadap sampel selama 4 jam.
9. Sampel dicampur dengan 150 mL larutan H₂SO₄ 1 N.
10. Sampel kemudian dipanaskan pada suhu 100°C selama 2 jam.
11. Sampel kemudian disaring dengan kertas saring lalu dibilas dengan *aquadest*.
12. Bagian padat sampel kemudian dikeringkan dalam oven pada suhu 105°C sampai konstan dan dihitung beratnya (berat d).
13. Sampel hasil langkah (12) dipanaskan pada suhu 600°C selama 4-6 jam lalu ditimbang (berat e).

Cara perhitungan kadar hemiselulosa, selulosa, dan lignin menggunakan rumus berikut.

$$\text{Kadar Hemiselulosa} = \frac{\text{berat b} - \text{berat c}}{\text{berat a}} \times 100\%$$

$$\text{Kadar selulosa} = \frac{\text{berat c} - \text{berat d}}{\text{berat a}} \times 100\%$$

$$\text{Kadar lignin} = \frac{\text{berat d} - \text{berat e}}{\text{berat a}} \times 100\%$$

Lampiran 2. Data Hasil Analisis Lignoselulosa dengan Metode Chesson

Data hasil timbangan uji lignoselulosa dengan metode Chesson sebelum *Pretreatment*

Substrat	a (g)	b (g)	c (g)	d (g)	e (g)
100:0	1,529	1,1984	0,6228	0,1771	0,0044
75:25	1,5509	1,1411	0,6593	0,2583	0,0726
50:50	1,5515	1,1754	0,6857	0,2562	0,0611
25:75	1,5065	1,1469	0,7273	0,3526	0,1522
0:100	1,5496	1,098	0,7369	0,3836	0,2031

Data kadar hemiselulosa, selulosa, dan lignin hasil perhitungan rumus sebelum *Pretreatment*

Substrat	Hemiselulosa (%)	Selulosa (%)	Lignin (%)
100:0	38	29	11
75:25	31	26	12
50:50	32	28	13
25:75	28	25	13
0:100	23	23	11

Data hasil timbangan uji lignoselulosa dengan metode Chesson setelah *Pretreatment*

Substrat	a (g)	b (g)	c (g)	d (g)	e (g)
100:0	1,0021	0,862	0,6032	0,1787	0,0111
75:25	1,0017	0,8939	0,6514	0,2568	0,0568
50:50	1,0036	0,8914	0,6375	0,2468	0,0757
25:75	1,0037	0,9111	0,7023	0,3181	0,0562
0:100	1,0023	0,9252	0,7158	0,4096	0,1731

Data kadar hemiselulosa, selulosa, dan lignin hasil perhitungan rumus setelah *Pretreatment*

Substrat	Hemiselulosa (%)	Selulosa (%)	Lignin (%)
100:0	26	42	17
75:25	24	39	20
50:50	25	39	17
25:75	21	38	26
0:100	21	31	24

Lampiran 3. Prosedur Pembuatan Reagen Nelson-Somogyi

a. Komposisi Reagen

1. Reagen Arsenomolybdate

- Reagen A : 25 g Ammonium Molybdat, 450 mL *aquadest*, 25 mL H_2SO_4 pekat.
- Reagen B : 3 g Natrium arsenat, 25 mL *aquadest*, Reagen A

2. Reagen Nelson

- Nelson A : 12,5 g Na_2CO_3 anhidrat, 12,5 mL KNa tartrat, 10 g $NaHCO_3$, 100 g $NaSO_4$ anhidrat, 500 mL *aquadest*
- Nelson B : 7,5 g $CuSO_4 \cdot 5H_2O$, 50 mL *aquadest*, 1-2 tetes H_2SO_4 pekat

- b. Pembuatan Reagen
1. Reagen Arsenomolybdat
Reagen A
 - Ammonium molybdat ditambah *aquadest*, diaduk hingga tidak ada endapan
 - Larutan ditambah H_2SO_4 pekat dan kembali diaduk hingga rataReagen B
 - Natrium arsenat ditambah *aquadest*, diaduk hingga tidak ada endapan
 - Larutan ditambah reagen A dan kembali diaduk hingga rata
 - Larutan dipindah ke dalam botol gelap dan inkubasi pada suhu $37^{\circ}C$ selama 24 jam
 2. Reagen Nelson
Reagen Nelson terdiri dari Nelson A dan Nelson B dengan perbandingan masing-masing 25 : 1. Reagen Nelson harus baru setiap kali pengujian sampel.

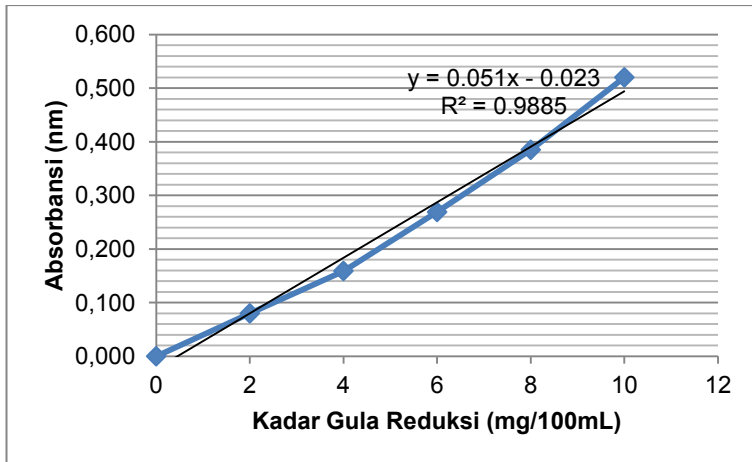
Lampiran 4. Prosedur Analisa Gula Reduksi dengan Metode Nelson-Somogyi

- a. Pembuatan Kurva Standar
- Dibuat larutan glukosa standar (50 mg glukosa anhidrat/100 mL)
 - Dilakukan pengenceran dari larutan glukosa standar sehingga diperoleh larutan glukosa dengan konsentrasi 2, 4, 6, 8 dan 10 mg/100 mL.
 - Disiapkan tabung reaksi sebanyak 6 buah, lalu masing-masing tabung reaksi diisi dengan 1 mL larutan glukosa standar dan satu tabung reaksi diisi dengan 1 mL *aquadest* sebagai blanko.
 - Masing-masing tabung reaksi tersebut ditambah 1 mL reagen Nelson dan semua tabung dipanaskan selama 20 menit.

- Semua tabung diambil dan segera didinginkan dalam beakerglass berisi air dingin sehingga suhu larutan dalam tabung mencapai 25°C.
- Setelah itu ditambah 1 mL reagen Arsenomolybdate dan dikocok sehingga semua endapan Cu_2O larut kembali, kemudian ditambah 7 mL *aquadest* sampai homogen.
- Masing-masing absorbandi larutan ditera panjang gelombang 540 nm.
- Dibuat kurva standar dengan mengalurkan antara konsentrasi glukosa (absis) dan absorbansi (ordinat).

Tabel Nilai Absorbansi

Konsentrasi Gula (mg/100 mL)	Absorbansi
0	0,000
2	0,080
4	0,159
6	0,269
8	0,385
10	0,520



Gambar Kurva Kalibrasi

- b. Pengukuran Kadar Gula Reduksi Sampel
- Larutan sampel diambil sebanyak 1 mL ke dalam tabung reaksi
 - Ditambahkan 1 mL reagen Nelson dan selanjutnya diperlakukan seperti pada prosedur pembuatan kurva standar.
 - Jumlah gula reduksi ditentukan berdasarkan absorbansi larutan sampel dan kurva standar larutan glukosa.

Lampiran 5. Penentuan Kadar Gula Reduksi

Penentuan kadar gula reduksi larutan didapatkan dari nilai absorbansi dengan rumus berikut:

$$x = \left(\frac{y+0,023}{0,051} \times p \right) \text{ mg/100mL}$$

Keterangan:

y = nilai absorbansi

x = kadar gula reduksi
p = faktor pengenceran

Konsentrasi gula reduksi 100 g substrat dalam 1000 mL didapatkan dengan rumus berikut:

$$\text{Gula reduksi (mg/g)} = \frac{x}{100 \text{ g} / 1000 \text{ mL}}$$

Perhitungan gula reduksi untuk substrat 100:0 setelah *pretreatment* adalah sebagai berikut:

$$x = \left(\frac{y+0,023}{0,051} \times p \right) \text{ mg/100mL}$$

$$x = \left(\frac{1,583+0,023}{0,051} \times 1 \right) \text{ mg/100mL}$$

$$x = 31,490 \text{ mg/100mL}$$

$$\begin{aligned} \text{Gula reduksi (mg/g)} &= \frac{31,490 \text{ mg/100mL}}{100 \text{ g} / 1000 \text{ mL}} \\ &= 3,149 \text{ mg/g} \end{aligned}$$

Data seluruh hasil uji gula reduksi dengan metode Nelson-Somogyi setelah *Pretreatment* tanpa pengenceran.

Substrat	Abs.	Gula Reduksi (mg/100mL)	Gula Reduksi (mg/g)
100:0	1,583	31,490	3,149
75:25	1,389	27,686	2,769
50:50	1,234	24,647	2,465
25:75	1,091	21,843	2,184
0:100	0,918	18,451	1,845

Data hasil uji gula reduksi dengan metode Nelson-Somogyi setelah hidrolisis dengan pengenceran 10 kali.

Substrat	Abs.	Gula Reduksi (mg/100mL)	Gula Reduksi (mg/g)
100:0	1,245	248,627	24,863
75:25	1,000	200,588	20,059
50:50	0,776	156,667	15,667
25:75	0,419	86,667	8,667
0:100	0,288	60,980	6,098

Data hasil uji gula reduksi dengan metode Nelson-Somogyi setelah fermentasi (residu) dengan pengenceran 10 kali.

- Penambahan 50 mL *S. cerevisiae*

Substrat	Abs.	Gula Reduksi (mg/100mL)	Gula Reduksi (mg/g)
100:0	0,117	27,451	2,745
75:25	0,312	65,686	6,569
50:50	0,306	64,510	6,451
25:75	0,241	51,765	5,176
0:100	0,108	25,686	2,569

- Penambahan 100 mL *S. cerevisiae*

Substrat	Abs.	Gula Reduksi (mg/100mL)	Gula Reduksi (mg/g)
100:0	0,480	98,627	9,863
75:25	0,115	27,059	2,706
50:50	0,356	74,314	7,431
25:75	0,267	56,863	5,686
0:100	0,191	41,961	4,196

Lampiran 4. Pembuatan Larutan Asam

1. Pembuatan H_2SO_4 1 N

H_2SO_4 cair 98%

BM H_2SO_4 pekat = 98,08 g/mol

Valensi H_2SO_4 = 2

Dalam 1 L = 1,84 kg; densitas = 1,84 g/mL

Volume (mL) H_2SO_4 pekat yang dibutuhkan untuk membuat H_2SO_4 1 N 1000 mL adalah:

$$\begin{aligned} M \text{H}_2\text{SO}_4 \text{ pekat} &= (\% \times p \times 1000) / \text{BM} \\ &= (0,98 \times 1,84 \times 1000) / 98,08 \\ &= 36,76 \end{aligned}$$

$$N_1 \times V_1 = N_2 \times V_2$$

$$36,76 \times V_1 = 1 \times 1000$$

$$V_1 = 27,2 \text{ mL}$$

Jadi, asam sulfat yang ditambahkan adalah 27,2 mL, sedangkan *aquadest* yang dibutuhkan 972,8 mL.

2. Pembuatan H_2SO_4 72%

$$N_1 \times V_1 = N_2 \times V_2$$

$$0,98 \times V_1 = 0,72 \times 150$$

$$V_1 = 110,2$$

Jadi, asam sulfat yang ditambahkan adalah 110,2 mL, sedangkan *aquadest* yang dibutuhkan 39,8 mL.

Lampiran 6. Dokumentasi Kegiatan



Eceng Gondok di Perairan sekitar ITS



Jerami Padi



Proses Pengeringan Eceng Gondok di Bawah Matahari



(a)



(b)

(a) Serbuk Eceng Gondok; (b) Serbuk Jerami padi



Proses Pemanasan dan Penyaringan pada Uji Lignoselulosa



Sampel Kurva Standar Uji Glukosa dengan Metode Nelson-Somogyi



Proses Hidrolisis



Proses Fermentasi

Lampiran 7. Hasil uji Gas Kromatografi

Kadar etanol pada penelitian ini dihitung menggunakan metode gas kromatografi yang dilakukan di Laboratorium Teknologi Bioproses dan Teknologi Lingkungan jurusan Teknik Kimia Universitas Surabaya. Kondisi operasional alat dapat dilihat sebagai berikut:

Merk	: Hewlett Packard (HP-series 6890)
	Made in USA
Kolom	: HP-Poraplot –Q04
Type	: Mid Polar
Detektor	: FID (Flame Ionisasi Detector)
Suhu Kolom	: 150°C

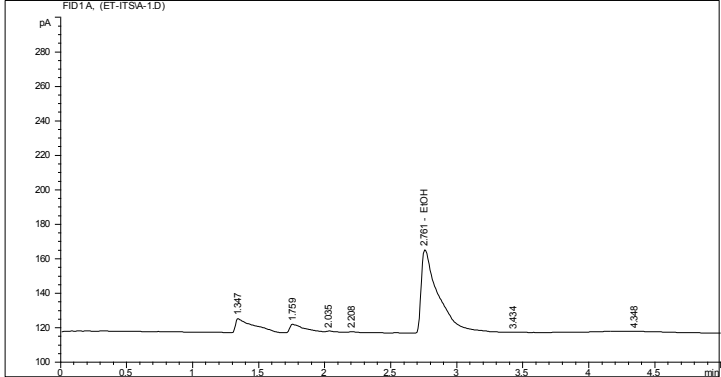
Suhu Injektor : 250°C
 Suhu Detektor : 275°C
 RT (*Retention Time*) : 1,9 menit
 Flow Rate : 2 mL/menit
 Average Velocity : 23 cm/s

Data etanol hasil uji gas kromatografi

Substrat	50 mL <i>S. cerevisiae</i>			100 mL <i>S. cerevisiae</i>		
	Kadar etanol % (v/v)					
	48 jam	72 jam	96 jam	48 jam	72 jam	96 jam
100:0	0,140	0,141	0,122	0,241	0,242	0,302
75:25	0,112	0,130	0,158	0,234	0,260	0,350
50:50	0,105	0,109	0,148	0,127	0,222	0,136
25:75	0,082	0,087	0,123	0,205	0,287	0,321
0:100	0,091	0,133	0,115	0,100	0,170	0,138

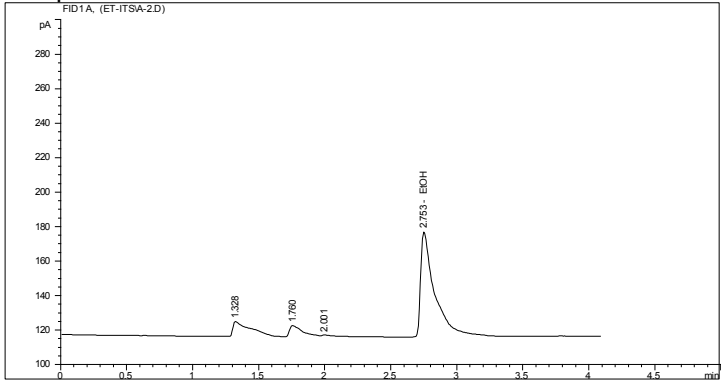
Substrat	50 mL <i>S. cerevisiae</i>			100 mL <i>S. cerevisiae</i>		
	Kadar etanol (mg/g)					
	48 jam	72 jam	96 jam	48 jam	72 jam	96 jam
100:0	1,40	1,41	1,22	2,41	2,42	3,02
75:25	1,12	1,30	1,58	2,34	2,60	3,50
50:50	1,05	1,09	1,48	1,27	2,22	1,36
25:75	0,82	0,87	1,23	2,05	2,87	3,21
0:100	0,91	1,33	1,15	1,00	1,70	1,38

Grafik hasil uji gas kromatografi per sampel
Sampel A1.



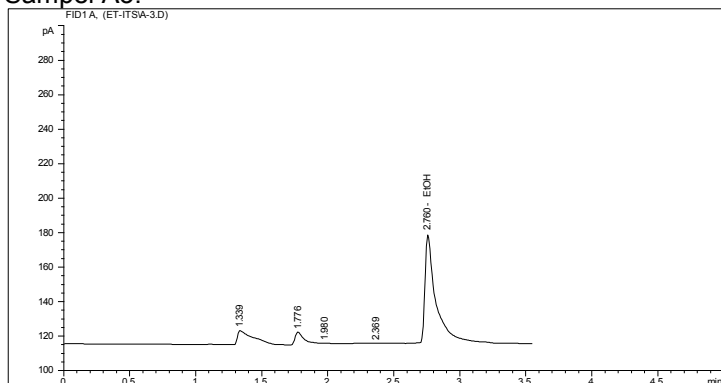
RetTime	Type	Area	Amt/Area	Amount	Grp	Name
[min]		[pA*s]		[% (v/v)]		
2.761	VV +	451.25604	3.10266e-4	1.40009e-1		EtOH
Totals :				1.40009e-1		

Sampel A2.



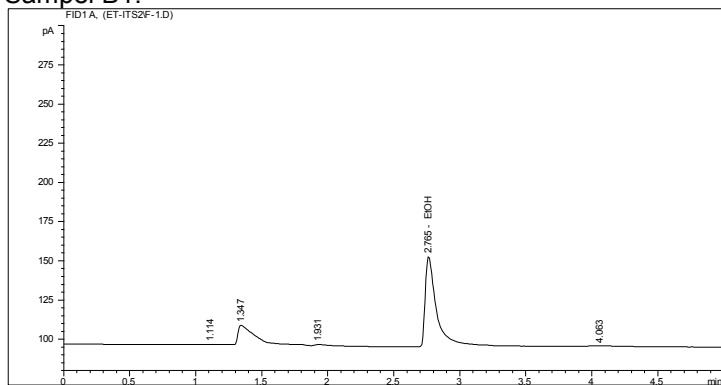
RetTime	Type	Area	Amt/Area	Amount	Grp	Name
[min]		[pA*s]		[% (v/v)]		
2.753	PV +	456.26260	3.09597e-4	1.41257e-1		EtOH
Totals :				1.41257e-1		

Sampel A3.



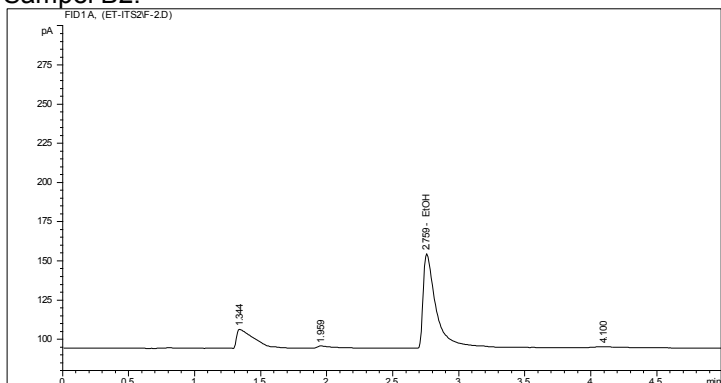
RetTime [min]	Type	Area [pA*s]	Amt/Area	Amount [% (v/v)]	Grp	Name
2.760	VB +	380.83691	3.21537e-4	1.22453e-1		EtOH
Totals :				1.22453e-1		

Sampel B1.



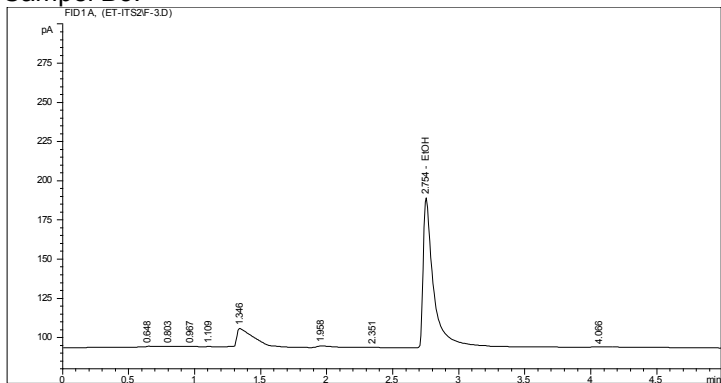
RetTime [min]	Type	Area [pA*s]	Amt/Area	Amount [% (v/v)]	Grp	Name
2.765	PB +	340.87491	3.30005e-4	1.12490e-1		EtOH
Totals :				1.12490e-1		

Sampel B2.



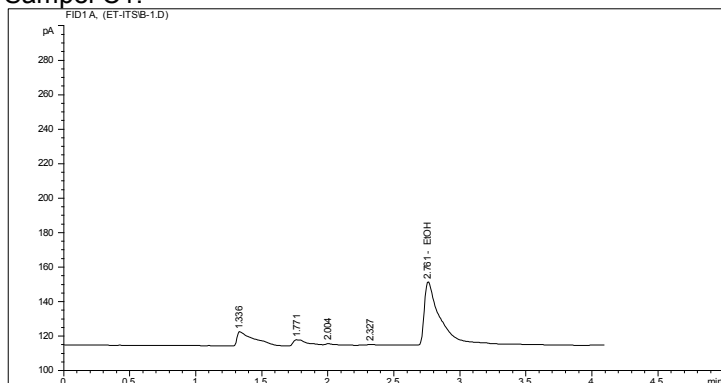
RetTime [min]	Type	Area [pA*s]	Amt/Area	Amount [% (v/v)]	Grp	Name
2.759	PB +	409.60699	3.16464e-4	1.29626e-1		EtOH
Totals :				1.29626e-1		

Sampel B3.



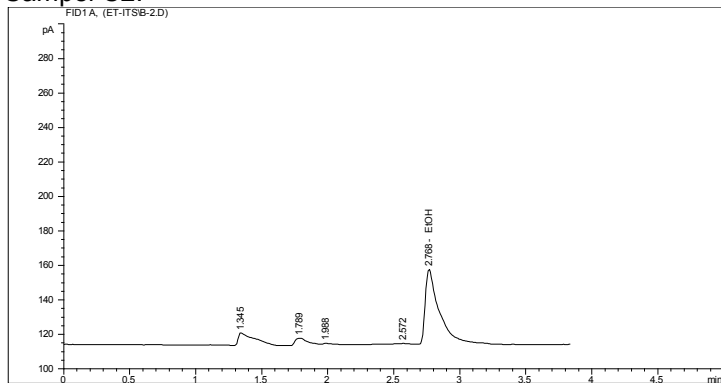
RetTime [min]	Type	Area [pA*s]	Amt/Area	Amount [% (v/v)]	Grp	Name
2.754	BB +	526.13849	3.01590e-4	1.58678e-1		EtOH
Totals :				1.58678e-1		

Sampel C1.



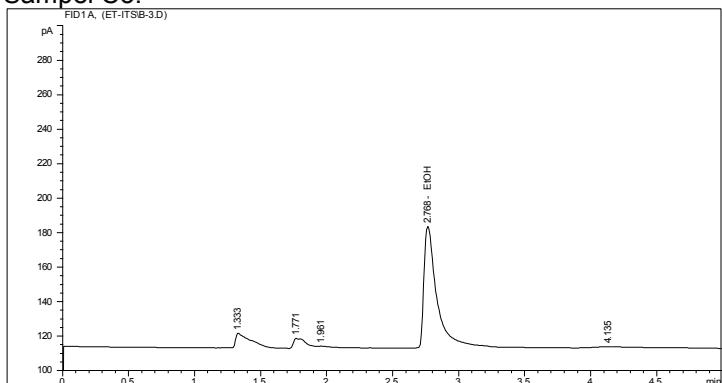
RetTime [min]	Type	Area [pA*s]	Amt/Area	Amount [% (v/v)]	Grp	Name
2.761	VB +	311.12430	3.37722e-4	1.05073e-1		EtOH
Totals :				1.05073e-1		

Sampel C2.



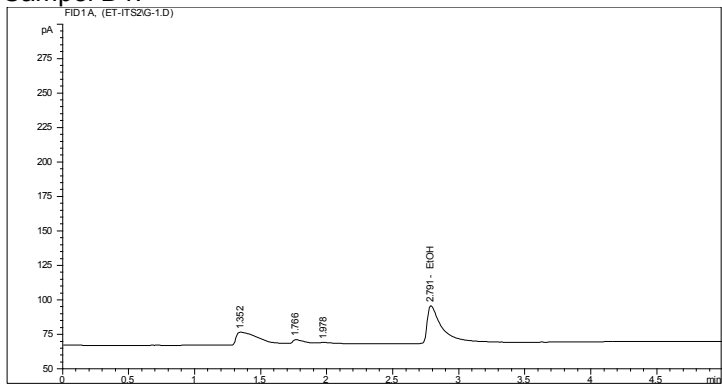
RetTime [min]	Type	Area [pA*s]	Amt/Area	Amount [% (v/v)]	Grp	Name
2.768	VP +	328.95679	3.32929e-4	1.09519e-1		EtOH
Totals :				1.09519e-1		

Sampel C3.



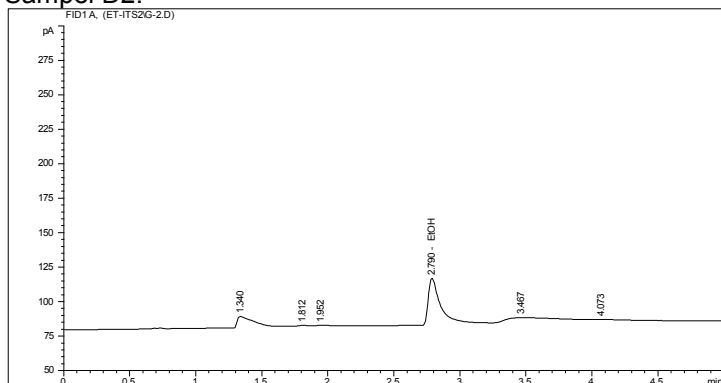
RetTime [min]	Type	Area [pA*s]	Amt/Area	Amount [% (v/v)]	Grp	Name
2.768	PB +	484.48886	3.06084e-4	1.48295e-1		EtOH
Totals :				1.48295e-1		

Sampel D1.



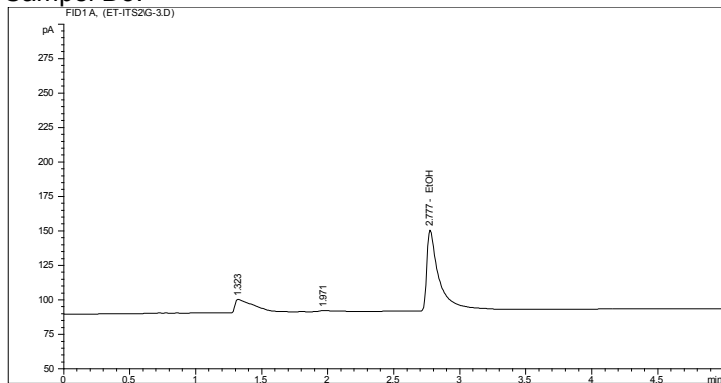
RetTime [min]	Type	Area [pA*s]	Amt/Area	Amount [% (v/v)]	Grp	Name
2.791	PB +	217.50417	3.75777e-4	8.17331e-2		EtOH
Totals :				8.17331e-2		

Sampel D2.



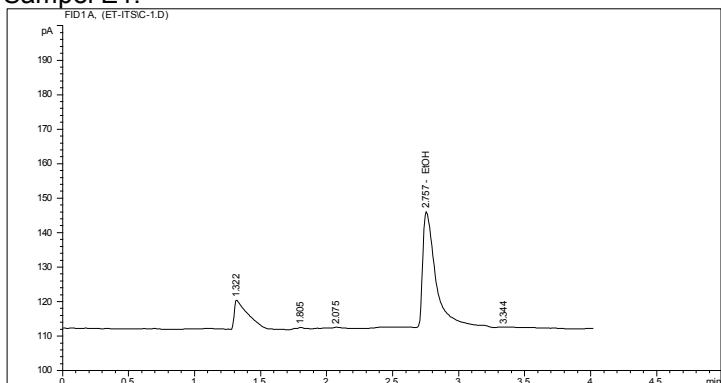
RetTime [min]	Type	Area [pA*s]	Amt/Area	Amount [% (v/v)]	Grp	Name
2.790	PV +	236.63661	3.65552e-4	8.65030e-2		EtOH
Totals :				8.65030e-2		

Sampel D3.



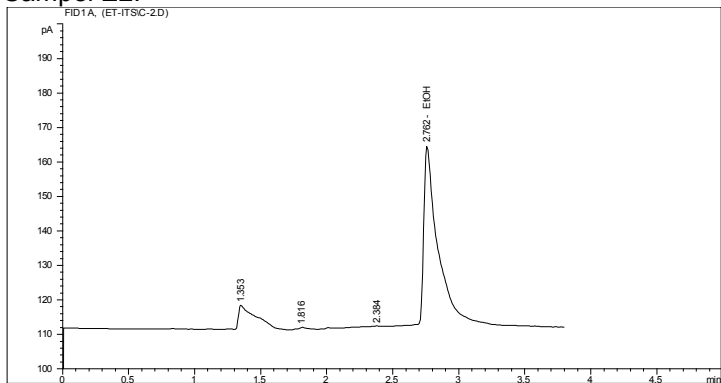
RetTime [min]	Type	Area [pA*s]	Amt/Area	Amount [% (v/v)]	Grp	Name
2.777	PB +	382.62372	3.21200e-4	1.22899e-1		EtOH
Totals :				1.22899e-1		

Sampel E1.



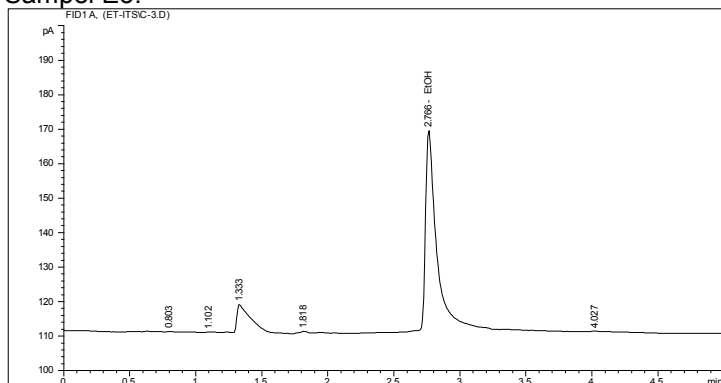
RetTime [min]	Type	Area [pA*s]	Amt/Area	Amount [% (v/v)]	Grp	Name
2.757	VV +	253.59538	3.57778e-4	9.07310e-2		EtOH
Totals :				9.07310e-2		

Sampel E2.



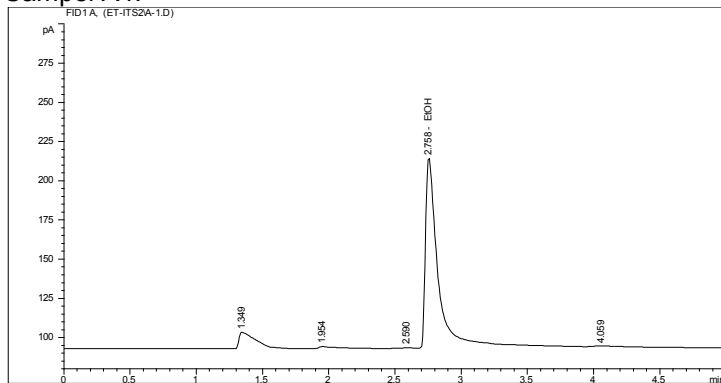
RetTime [min]	Type	Area [pA*s]	Amt/Area	Amount [% (v/v)]	Grp	Name
2.762	VB +	425.50793	3.13954e-4	1.33590e-1		EtOH
Totals :				1.33590e-1		

Sampel E3.



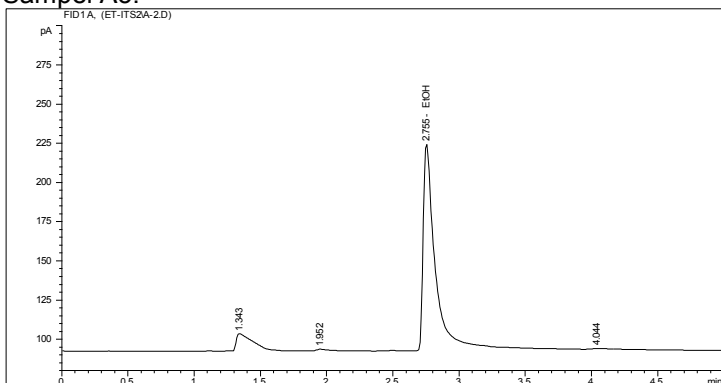
RetTime [min]	Type	Area [pA*s]	Amt/Area	Amount [% (v/v)]	Grp	Name
2.766	BB +	349.65601	3.27978e-4	1.14680e-1		EtOH
Totals :				1.14680e-1		

Sampel A4.



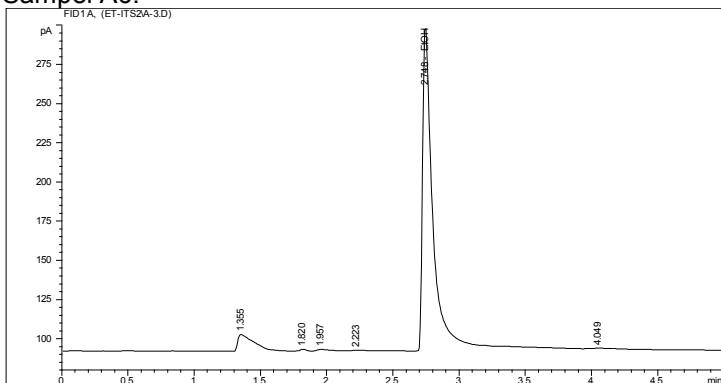
RetTime [min]	Type	Area [pA*s]	Amt/Area	Amount [% (v/v)]	Grp	Name
2.758	VB +	854.35052	2.81505e-4	2.40504e-1		EtOH
Totals :				2.40504e-1		

Sampel A5.



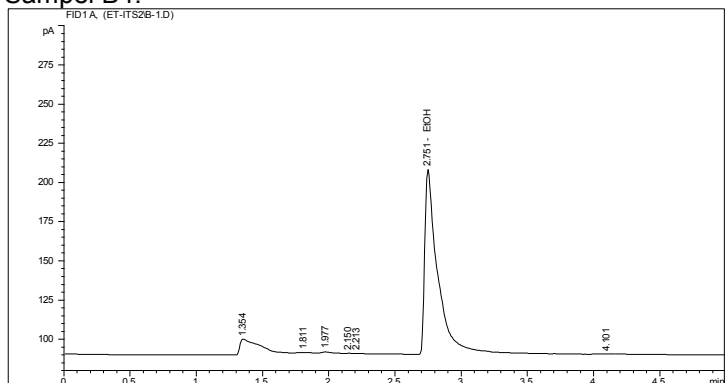
RetTime [min]	Type	Area [pA*s]	Amt/Area	Amount [% (v/v)]	Grp	Name
2.755	BB +	859.56610	2.81310e-4	2.41804e-1		EtOH
Totals :				2.41804e-1		

Sampel A6.



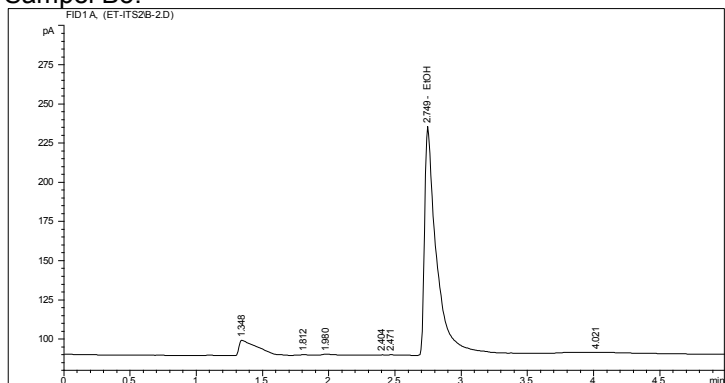
RetTime [min]	Type	Area [pA*s]	Amt/Area	Amount [% (v/v)]	Grp	Name
2.748	PB +	1101.22717	2.74287e-4	3.02052e-1		EtOH
Totals :				3.02052e-1		

Sampel B4.



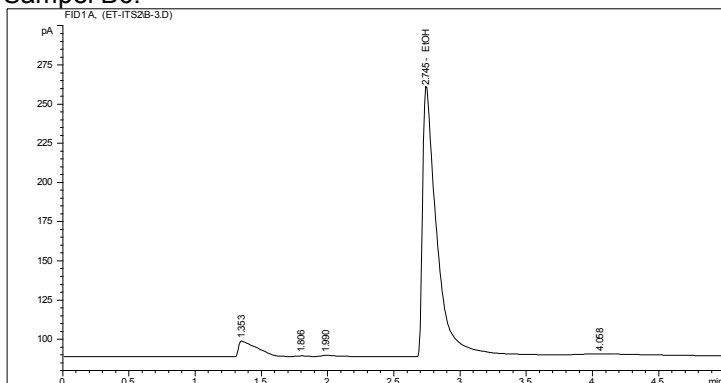
RetTime [min]	Type	Area [pA*s]	Amt/Area	Amount [% (v/v)]	Grp	Name
2.751	PB +	830.22137	2.82441e-4	2.34488e-1		EtOH
Totals :				2.34488e-1		

Sampel B5.



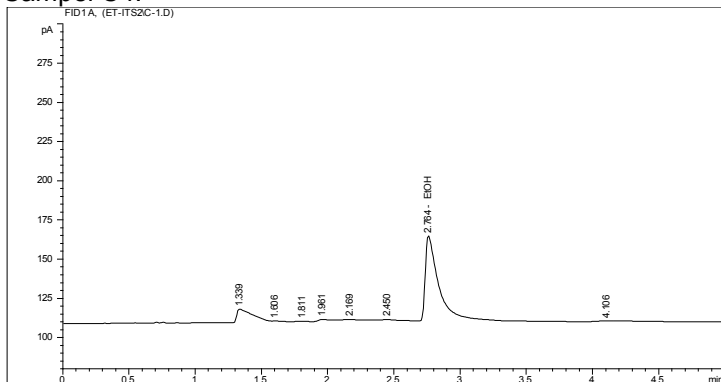
RetTime [min]	Type	Area [pA*s]	Amt/Area	Amount [% (v/v)]	Grp	Name
2.749	VB +	933.87677	2.78763e-4	2.60330e-1		EtOH
Totals :				2.60330e-1		

Sampel B6.



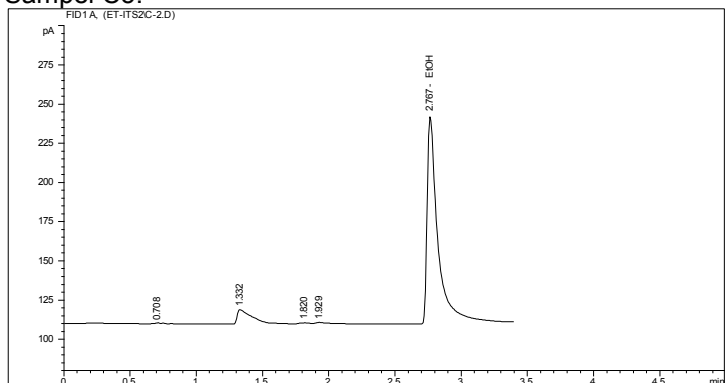
RetTime [min]	Type	Area [pA*s]	Amt/Area	Amount [% (v/v)]	Grp	Name
2.745	PB +	1294.97034	2.70550e-4	3.50354e-1		EtOH
Totals :				3.50354e-1		

Sampel C4.



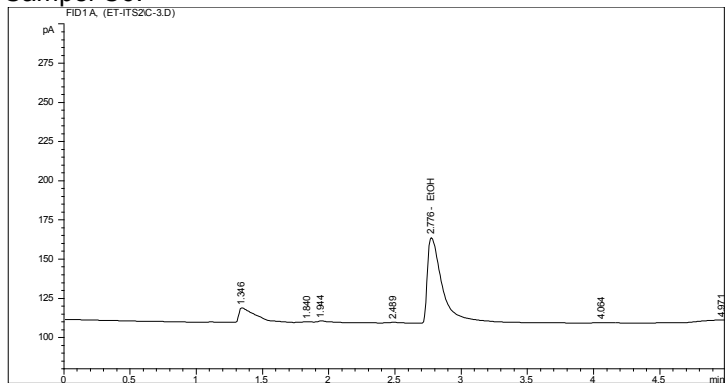
RetTime [min]	Type	Area [pA*s]	Amt/Area	Amount [% (v/v)]	Grp	Name
2.764	VB +	398.83160	3.18278e-4	1.26939e-1		EtOH
Totals :				1.26939e-1		

Sampel C5.



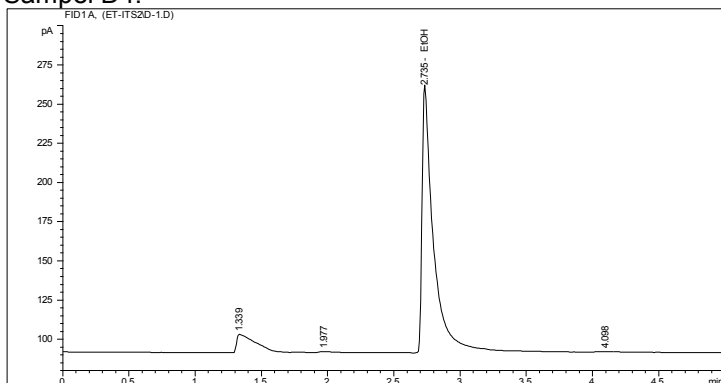
RetTime [min]	Type	Area [pA*s]	Amt/Area	Amount [% (v/v)]	Grp	Name
2.767	BBA +	780.82886	2.84537e-4	2.22174e-1		EtOH
Totals :				2.22174e-1		

Sampel C6.



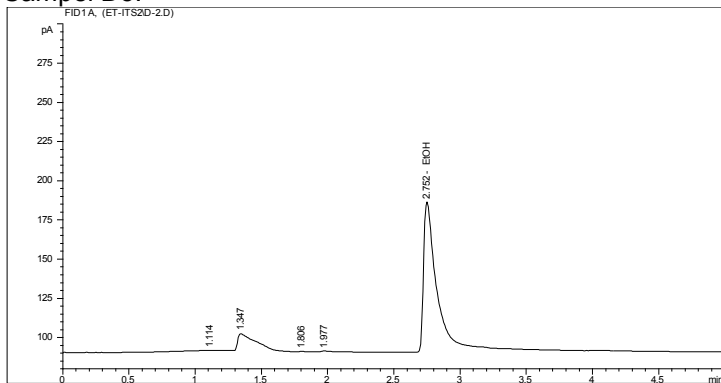
RetTime [min]	Type	Area [pA*s]	Amt/Area	Amount [% (v/v)]	Grp	Name
2.776	PB +	437.25540	3.12218e-4	1.36519e-1		EtOH
Totals :				1.36519e-1		

Sampel D4.



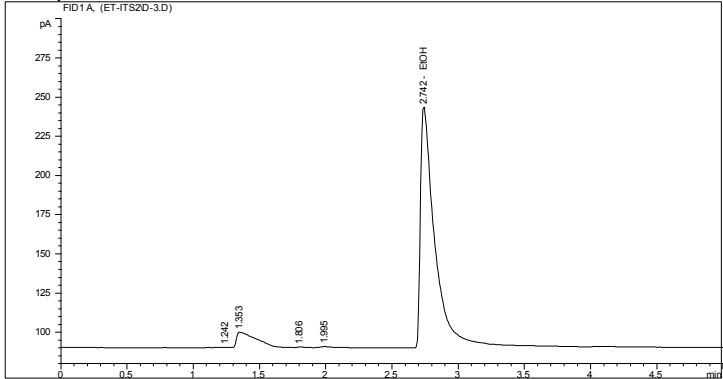
RetTime [min]	Type	Area [pA*s]	Amt/Area	Amount [% (v/v)]	Grp	Name
2.735	PB +	1040.39880	2.75747e-4	2.86887e-1		EtOH
Totals :				2.86887e-1		

Sampel D5.



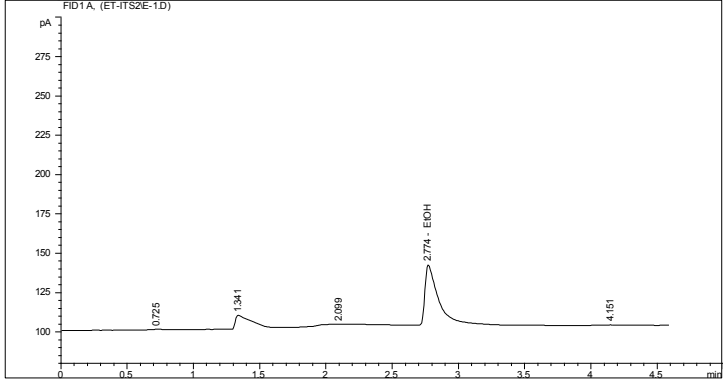
RetTime [min]	Type	Area [pA*s]	Amt/Area	Amount [% (v/v)]	Grp	Name
2.752	PB +	712.13843	2.87935e-4	2.05049e-1		EtOH
Totals :				2.05049e-1		

Sampel D6.



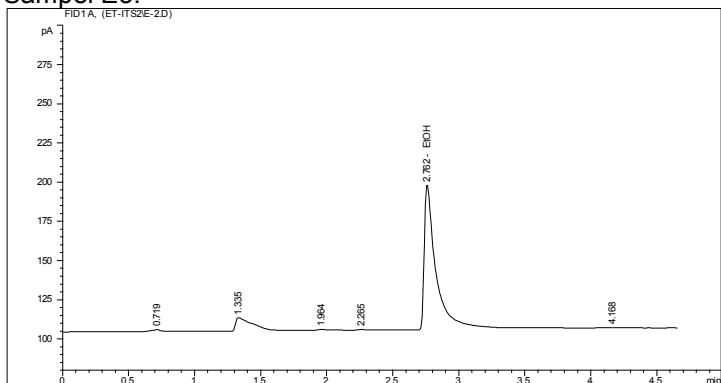
RetTime	Type	Area	Amt/Area	Amount	Grp	Name
[min]		[pA*s]		[% (v/v)]		
2.742	PB +	1178.68555	2.72645e-4	3.21363e-1		EtOH
Totals :				3.21363e-1		

Sampel E4.



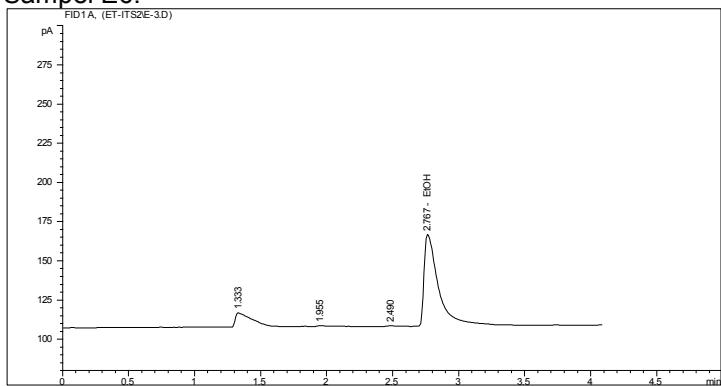
RetTime	Type	Area	Amt/Area	Amount	Grp	Name
[min]		[pA*s]		[% (v/v)]		
2.774	BB +	289.76389	3.44239e-4	9.97481e-2		EtOH
Totals :				9.97481e-2		

Sampel E5.



RetTime [min]	Type	Area [pA*s]	Amt/Area	Amount [% (v/v)]	Grp	Name
2.762	VB +	573.42584	2.97279e-4	1.70467e-1		EtOH
Totals :				1.70467e-1		

Sampel E6.



RetTime [min]	Type	Area [pA*s]	Amt/Area	Amount [% (v/v)]	Grp	Name
2.767	PB +	445.14413	3.11103e-4	1.38486e-1		EtOH
Totals :				1.38486e-1		

“Halaman ini sengaja dikosongkan.”

BIOGRAFI PENULIS



Penulis lahir di Kota Bontang tanggal 13 April 1994. Penulis mengenyam pendidikan dasar dengan program akselerasi pada tahun 2000-2005 di SD 1 Yayasan Pupuk Kaltim (YPK) Bontang. Kemudian dilanjutkan di SMP YPK Bontang pada tahun 2005-2008, sedangkan pendidikan tingkat atas dilalui di SMAN 1 Bontang pada tahun 2008-2011. Penulis kemudian melanjutkan pendidikan S1 di Jurusan Teknik Lingkungan, Fakultas Teknik Sipil dan Perencanaan, ITS, Surabaya pada tahun 2011 dan terdaftar dengan NRP 3311100041.

Pada tahun pertama dan kedua selama perkuliahan, penulis aktif sebagai panitia dan pengurus di kegiatan Himpunan Mahasiswa Teknik Lingkungan (HMTL) FTSP ITS. Pada tahun kedua hingga keempat penulis juga berperan aktif dalam kegiatan Persekutuan Mahasiswa Kristen (PMK) tingkat ITS. Penulis menjadi badan pengurus harian PMK ITS pada periode 2014/2015. Penulis dapat dihubungi via email iriinlamria@gmail.com.